



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato in Scienze Agrarie Forestali e Ambientali

Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali

Settore Scientifico Disciplinare AGR/19

EFFETTI DELL'UTILIZZAZIONE DELLA CRUSCA DI FRUMENTO DURO NELLA DIETA SULLE RISPOSTE PRODUTTIVE DEI RUMINANTI

IL DOTTORE

Francesca Vitale

IL COORDINATORE

Prof. Vincenzo Bagarello

IL TUTOR

Dr. Antonino Di Grigoli

CO TUTOR

Prof. Adriana Bonanno

CICLO XXIX

ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO 2017

INDICE GENERALE

PARTE INTRODUTTIVA	pag. 1
1. Il frumento duro	pag. 1
1.1. Diffusione e coltivazione nel mondo	pag. 1
1.1.1. Situazione italiana	pag. 2
1.2. La cariosside di frumento duro	pag. 4
1.3. Il processo di molitura del frumento	pag. 7
1.3.1. I sottoprodotti del frumento duro	pag. 10
2. La crusca	pag. 13
2.1. Struttura della crusca di frumento	pag. 13
2.2. Composizione chimica della crusca	pag. 13
2.3. Profilo nutrizionale e salutistico della crusca	pag. 14
2.4. Contenuto in composti antiossidanti	pag. 17
3. L'impiego della crusca nell'alimentazione zootecnica	pag. 22
3.1. Effetti della crusca sulle prestazioni delle specie zootecniche	pag. 23
4. I polifenoli nell'alimentazione zootecnica	pag. 28
4.1. Lo stress ossidativo negli animali da allevamento e la funzione antiossidante dei polifenoli	pag. 32
PARTE SPERIMENTALE	pag. 39
5. - 1° Contributo sperimentale. Effetto della crusca somministrata con la dieta sulle produzioni lattiero casearie e sullo stato metabolico-ossidativo di bovine da latte	pag. 39
5.1. Riassunto	pag. 39
5.2. Introduzione	pag. 42
5.3. Materiale e metodi	pag. 44
5.3.1. Bovine, diete e disegno sperimentale	pag. 44
5.3.2. Rilevamenti, analisi e determinazioni	pag. 44
5.3.3. Analisi statistica	pag. 48
5.4. Risultati e discussione	pag. 50
5.5. Conclusioni	pag. 57

6. - 2° Contributo sperimentale.

Effetti di diversi piani alimentari a base di crusca e dell'età di macellazione

sulla produzione di carne ovina pag. 68

6.1. Riassunto pag. 68

6.2. Introduzione pag. 70

6.3. Materiale e metodi pag. 73

6.3.1. Agnelli, diete e disegno sperimentale pag. 73

6.3.2. Rilevamenti e analisi pag. 74

6.3.3. Analisi statistica pag. 81

6.4. Risultati e discussione pag. 83

6.5. Conclusioni pag. 91

7. BIBLIOGRAFIA pag. 105

8. SITOGRAFIA pag. 118

*Alla mia Famiglia,
per aver sostenuto, incoraggiato e
entusiasmato con fierezza, ogni mia scelta.*

Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutti coloro che mi hanno aiutato nel compimento della mia tesi di dottorato, per avermi trasmesso l'amore per l'attività di studio e ricerca.

A loro va tutta la mia gratitudine.

Innanzitutto ringrazio i miei docenti Tutor e Co-tutor.

A loro rivolgo, i miei primi ringraziamenti.

Ringrazio il Dott. Antonino Di Grigoli, relatore della tesi, per la sua disponibilità, per gli insegnamenti pazienti che mi ha impartito durante tutto il mio percorso di dottorato, e per il forte sostegno che mi ha offerto durante le fasi di elaborazione e interpretazione dei dati e di stesura del lavoro di tesi.

Ringrazio, la Prof.ssa Adriana Bonanno, correlatore della tesi, per la sua saggezza, le risposte a tutti i miei dubbi, i consigli preziosi, l'entusiasmo che mi ha dimostrato, per avermi fatto sviluppare il senso critico e di "curiosità", elementi cardine per l'attività di ricerca, e per avermi dato l'opportunità di sviluppare un tema così interessante e ambizioso.

... non solo grandi maestri e professori, ma soprattutto GRANDI PERSONE.

La Prof.ssa Maria Luigia Alicata, per la sua interminabile generosità e benevolenza, per avermi trasmesso le sue conoscenze e le sue esperienze in campo didattico, in laboratorio e nella sperimentazione, per la precisione delle informazioni e delle osservazioni.

... la Dott.ssa Francesca Mazza per la infinita gentilezza, disponibilità e altruismo che mi ha mostrato durante le fasi di analisi in laboratorio, per le sue spiegazioni, le delucidazioni accurate e le risposte a tutte le mie domande...

... la Dott.ssa Stefania Vitale, mia sorella, per avermi incoraggiata, rafforzata, e anche per aver contribuito all'attività in laboratorio ...

... il Dott. Marco Alabiso e il Prof. Massimo Todaro per gli utili consigli e gli scambi di opinione in campo sperimentale e sull'offerta formativa...

... il Dott. Giuseppe Maniaci, per la sua collaborazione nella fase dell'attività in campo

... tutto lo staff del settore di Produzioni Animali del Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, il Sig. Piero Costa e la Sig.ra Caterina D'Arrigo, per la loro collaborazione, la simpatia e il senso dell'humor.

Per concludere, desidero ringraziare tutti coloro che ho incontrato in questo affascinante percorso e che, direttamente o indirettamente, hanno contribuito alla mia formazione e alla definizione di questa tesi.

PARTE INTRODUTTIVA

1. Il frumento duro

1.1. Diffusione e coltivazione nel mondo

La tabella 1 riporta la diffusione a livello mondiale del frumento duro e tenero, negli anni 2009 e 2014, secondo la FAO.

Tabella 1. Diffusione mondiale frumento duro e tenero nel 2009 e nel 2014 (fonte FAO)

		Superficie	Resa	Produzione
		migliaia di ha	t/ha	migliaia di t
2009	Mondo	225438	3,02	681916
	Asia	102119	2,95	300998
	Europa	61089	3,74	228713
	America	39026	2,77	108079
	Africa	9643	2,29	22067
	Oceania	13561	1,63	22059
2014	Mondo	221615	3,29	778966
	Asia	102021	3,09	31571
	Europa	58687	4,24	249134
	America	38339	2,93	112308
	Africa	9906	2,63	26096
	Oceania	1266	2,03	25716

La fonte statistica riporta i dati di produzione, resa e superficie investita del frumento duro aggregati con quelli del frumento tenero. Osservando la tabella, emerge come dal 2009 al 2014 si sia verificata una diminuzione delle superfici investite a frumento e un aumento delle rese e della produttività. Probabilmente questo è legato al lavoro di miglioramento genetico che ha portato alla creazione di cultivar di frumento caratterizzate da rese elevate. Il primo produttore mondiale è l'Asia, segue l'Europa.

Nella tabella 2 vengono evidenziati i maggiori Paesi produttori di frumento duro e tenero nel 2014.

Tabella 2. Maggiori paesi produttori di frumento (duro e tenero) nel 2014 (fonte FAO)

	Superficie (000 ha)	Resa (t/ha)	Produzione (000 t)
Cina	25002	5,04	126213
India	31188	3,03	94483
Fed. Russa	23908	2,5	59711
USA	18818	2,94	55395
Francia	5297	7,36	38967
Canada	4962	3,09	29281
Germania	3220	8,63	27785
Pakistan	9199	2,82	25979
Australia	12313	2,00	25303
Ucraina	6011	4,01	24114
Turchia	7821	2,43	19000
UK	1963	8,58	16621
Kazakistan	11923	1,09	12997
Polonia	2259	4,13	9339
Iran	5920	1,46	8652
Italia	1732	3,83	6642

Osservando nel dettaglio la produzione mondiale, al primo posto si attesta la Cina, segue l'India e la Federazione Russa. Invece, per quanto concerne i Paesi con maggiori superfici investite, ritroviamo al primo posto l'India, poi la Cina, gli USA e la Federazione Russa, mentre i Paesi in cui si registrano le rese più alte sono la Germania, il Regno Unito e la Francia. L'Italia si classifica al sedicesimo posto con una produzione di 6642 milioni di tonnellate e una resa di 3,83 tonnellate a ettaro.

1.1.1. Situazione italiana

Riguardo la situazione italiana, nell'annata agraria 2013-2014, si è osservata per i cereali una diminuzione sia della superficie investita (-8,3%), sia della produzione (-3,3%). In particolare, il frumento tenero ha registrato una diminuzione in termini sia di superficie investita sia di produzione (rispettivamente -7,1% e -7,0%); al contrario il frumento duro ha fatto registrare un aumento della superficie (+1,4%) e della produzione (+1,7%). Mentre per le altre colture si è osservato un trend in diminuzione

della superficie coltivata e della produzione, eccetto per il granturco ed il sorgo da granella e per la superficie di quest'ultima, come mostra la tabella 3.

Tabella 3. Superficie e produzione raccolta delle principali colture cerealicole negli anni 2010-2014 (fonte ISTAT)

	Superficie (000 ha)					Produzione raccolta (000 q)				
	2010	2011	2012	2013	2014	2010	2011	2012	2013	2014
Cereali	3475	3440	3498	3460	3174	185180	233851	185942	182146	176154
Frumento tenero	549	534	593	632	587	29281	28452	34942	33418	31059
Frumento duro	1282	1199	1260	1270	1288	39217	37966	41601	39702	40361
Segale	5	5	5	5	4	139	144	161	143	115
Orzo	272	270	246	237	233	9443	9509	9402	8756	8461
Avena	130	126	120	105	103	2889	2971	2924	2469	2410
Riso	248	247	235	216	-	15768	15558	16015	14331	-
Granturco	927	995	979	908	870	84959	97524	78601	78996	92395
Sorgo da granella	40	42	39	51	52	2756	2999	1622	3169	3666
Altri cereali	22	22	21	36	37	728	762	674	1162	1353

In Italia nel 2014, la superficie agricola utilizzata (SAU) è stata di 12.425.995 ha, soggetta anch'essa a una contrazione del -3,3% rispetto al 2010. Nell'ambito della SAU, il 54,9% è rappresentato da seminativi, il 26,9% da prati permanenti e pascoli e il 18,2% da coltivazioni permanenti. La superficie totale italiana destinata alle produzioni cerealicole è stata di 3.174.000 ha, con una contrazione dell'8,7% rispetto al censimento del 2010; il maggior contributo lo fornisce il Sud Italia, con una superficie investita a seminativi di 1.704.726 ha, e nello specifico la Sicilia con 679.327 ha (ISTAT, 2015).

Nella nostra nazione, la superficie investita a frumento nel 2014 è risultata di 1.875.000 ha, di cui 1.288.000 ha di frumento duro e 587.000 ha di frumento tenero, con una produzione di 71.420.000 q, di cui 40.361.000 q di duro e 31.059.000 q di tenero, con valori di resa di 3 t/ha del frumento duro e 5 t/ha del frumento tenero.

Le regioni italiane in cui si sono registrate le più alte produzioni di frumento duro sono la Puglia e la Sicilia, rispettivamente con 1.041.060 e 768.071 t ottenute

rispettivamente in 349.800 e 284.760 ha di superficie investita con una resa media di 2 t/ha (Ismea, 2015).

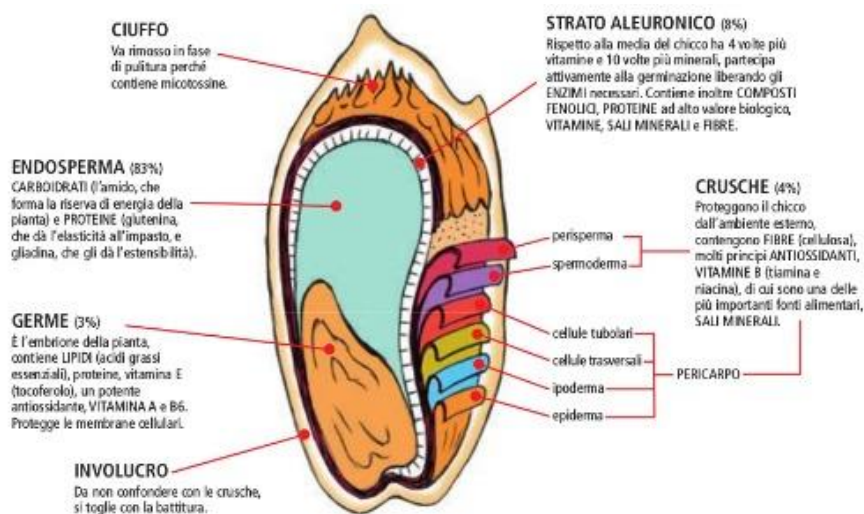
1.2. La cariosside di frumento duro

Il frumento duro (*Triticum turgidum* ssp. *durum* (Desf.) Husnot) appartiene alla famiglia delle Poaceae (= Graminacee) che comprende altri importanti cereali come orzo, riso, mais, triticale, avena, segale, panico e miglio.

Il prodotto principale del frumento duro è la cariosside che, dal punto di vista botanico, è un frutto-seme il cui endosperma è ricco in carboidrati di riserva e proteine quali gliadine e glutenine, la cui utilizzazione riguarda sia l'alimentazione umana ma anche quella animale.

Nella figura 1 viene rappresentata la struttura della cariosside di frumento duro.

Figura 1. Struttura della cariosside di frumento duro



Nella cariosside di frumento si distingue una parte ventrale e una dorsale. Dorsalmente, la cariosside può presentare forma ellittica, ovale e ovoidale. Lateralmente può mostrare forma regolare o gibbosa come nei grani turgidi. Nella parte ventrale si nota un solco più o meno accentuato. Il colore può essere chiaro o rosso brunastro o di gradazioni intermedie. L'endosperma può avere struttura farinosa, come nei frumenti tenero, turgido e spelta, oppure struttura vitrea e colore ambrato, come nel frumento duro, oppure semivitrea, come in alcune varietà di frumento tenero. La cariosside è

costituita per il 14-17% dal pericarpo e dai tegumenti seminali (involucri), per il 2-3% dall'embrione e per l'80-83% dall'endosperma.

Osservando la cariosside, dall'esterno verso l'interno, si trovano diversi strati, ognuno dei quali costituisce una componente (Gioia, 2014). Lo strato più esterno è costituito da glume o brattee; si tratta di strutture di protezione della cariosside e, a seconda del grado di adesione al seme durante le operazioni di trebbiatura, si possono distinguere le cariossidi in *vestite*, come nel caso di orzo, riso, avena, dove tali strutture sono intimamente legate con i tegumenti del frutto, o le cariossidi *nude* come nel caso del frumento e dei restanti cereali, dove lo strato esterno viene perso durante le operazioni di raccolta. L'eliminazione di queste strutture di protezione è importante, soprattutto se il cereale è destinato al consumo umano, per il loro elevato contenuto in silice (Lucisano e Pagani, 1997).

Procedendo verso la parte interna della cariosside si trova il pericarpo che risulta costituito a sua volta da vari strati di cellule (epicarpo, cellule intermedie, cellule incrociate e cellule tubolari), a cui seguono le componenti dello spermoderma e del perisperma, i quali costituiscono la crusca che svolge funzione protettiva grazie alla sua componente cellulosolitica, emicellulosolitica, di sali minerali e composti antiossidanti. Segue l'endosperma che rappresenta la componente più abbondante e importante dal punto di vista alimentare; risulta costituito dallo strato aleuronico, da cellule monostratificate ricche in proteine di tipo solubile e di alto valore biologico, sali minerali, enzimi, lipidi e vitamine.

Nella zona centrale si trova l'endosperma amilifero detto anche mandorla, contenente nutrienti in forma insolubile; trattasi di cellule contenenti granuli d'amido (60-70%) e proteine di riserva (8-18%), rappresentate principalmente da gliadine e glutenine che rappresentano il "glutine", responsabile della qualità tecnologica delle farine. Dall'esame microscopico dei granuli d'amido, è possibile riconoscere la provenienza delle farine, in quanto sia la forma che le dimensioni dei granuli d'amido sono tipiche di ogni cereale. L'endosperma contiene piccole percentuali di lipidi, di polisaccaridi, sostanze minerali e composti fenolici.

Infine troviamo il germe o embrione, il quale è separato dall'endosperma da un rivestimento esterno denominato scutello, porzione da cui si forma una nuova pianta

quando si verificano le condizioni per la germinazione. L'embrione presenta un'elevata quantità di lipidi, proteine, zuccheri solubili e vitamine.

Sia l'embrione che gli strati esterni della cariosside vengono allontanati durante il processo di raffinazione, e in tal modo si priva il prodotto del suo contenuto in fibre, sali minerali e vitamine. Quest'operazione del processo è necessaria soprattutto per motivi legati alla conservazione del prodotto in quanto l'elevato contenuto in acidi grassi del germe può determinare fenomeni d'irrancidimento.

La composizione chimica della cariosside di frumento è influenzata da numerosi fattori quali la varietà, il terreno, il clima, i trattamenti a cui la pianta è stata sottoposta e lo stato di conservazione.

In tabella 4 è riportata la composizione chimica centesimale dei principali componenti della cariosside di frumento duro.

Tabella 4. Composizione della cariosside di frumento duro e delle sue componenti (g/100 g di SS) (Lucisano e Pagani, 1997)

	Amido e altri carboidrati	Proteine	Cellulosa, emicellulosa, pentosani	Lipidi	Sali minerali
Pericarpo	14-16	10-14	60-74	1-3	3-5
Strato aleuronico	10-14	29-35	35-41	7-9	5-15
Endosperma	80-85	8-14	1-3	2-3	0,15
Germe	19-21	36-40	20-24	13-17	4-6

Nell'intera cariosside il contenuto in acqua risulta variabile dall'8 al 18%; sarebbe opportuno che non superi il 12-13% per permettere una buona conservabilità delle cariossidi. I carboidrati rappresentano mediamente l'82% del peso della cariosside; essi sono costituiti da amido per l'80-85%, da pentosani e carboidrati strutturali costituiti da cellulosa, emicellulosa e lignina. Le proteine si aggirano intorno all'11% e vengono distinte, sulla base della loro solubilità, in albumine e globuline (proteine ad alto valore biologico) e in prolamine (glutenine e gliadine localizzate nell'endosperma). A questo proposito si può aggiungere che in linea generale le proteine dell'endosperma sono carenti in lisina e ricchi in metionina mentre il germe risulta particolarmente ricco in amminoacidi essenziali, compresa la lisina (Martillotti et al, 1996).

I lipidi sono principalmente concentrati nel germe e si tratta di gliceridi esterificati per una percentuale intorno all'80-84% ad acidi grassi insaturi e per il 13% ad acidi grassi saturi. Il seme di frumento rappresenta una buona fonte di vitamine che tendono a concentrarsi nello strato aleuronico (Panatta, 1997) soprattutto quelle del gruppo B come la niacina e la piridossina, mentre la tiamina si trova nello scutello e la vitamina E nell'embrione. Nella cariosside di frumento sono discretamente rappresentati anche i sali minerali costituiti soprattutto da fosfato di potassio e magnesio, sali di zinco, ferro e calcio che sono situati nella parte esterna della cariosside (Cappelli e Vannucchi, 2005).

In definitiva, la cariosside di frumento possiede una composizione chimica adeguata dovuta oltre che alla presenza dei principali nutrienti, anche al suo contenuto in fibra, vitamine, amminoacidi essenziali e minerali.

Il frumento contiene anche altre sostanze, contenute in tracce, ad attività antiossidante, che saranno oggetto di una trattazione più approfondita in uno dei paragrafi successivi.

1.3. Il processo di molitura del frumento

La molitura è il processo tecnologico in cui avviene la trasformazione delle cariossidi dei cereali in sfarinati. L'obiettivo della macinazione è quello di separare l'endosperma amilaceo dalle parti tegumentali e dal germe e di ridurre la granulometria dell'endosperma a valori inferiori a 150-200 μm per la farina e a 500 μm per la semola.

Viene anche definito processo di macinazione a secco in quanto i chicchi vengono lavorati in assenza di acqua.

Nel caso del frumento vengono distinti i prodotti ottenuti dalla molitura del grano tenero da quelli ricavati dal grano duro.

Dal primo si ottengono farine, impiegate principalmente nella panificazione e nella produzione dei prodotti da forno, dal secondo si ricavano semole e semolati usati prevalentemente nell'industria pastaria. Nei molini moderni il ciclo di lavorazione è automatico e il personale ha solo il compito di regolare le macchine.

Oggi il processo di macinazione industriale del grano è un processo assai diverso da quello tradizionalmente realizzato con i molini a molazze e può essere distinto nelle seguenti fasi:

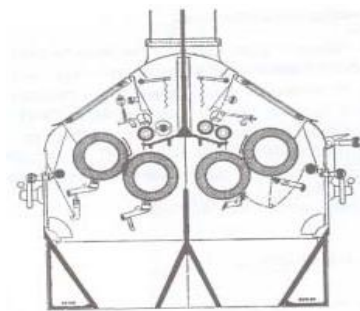
- ricezione, prepulitura e insilamento del grano in arrivo;

- pulitura e condizionamento;
- macinazione;
- conservazione degli sfarinati prodotti.

Durante la fase di macinazione il frumento subisce una prima rottura grazie ai laminatoi, rappresentati da una coppia di cilindri in ghisa opportunamente distanziati che presentano una superficie rigata e ruotano in senso opposto e a velocità differenti; successivamente la cariosside subisce altre 4-5 rotture.

I differenti passaggi di rottura hanno la funzione di aprire, incidere e laminare la cariosside di frumento, quindi allontanare l'endosperma dai tegumenti, frantumarlo e rimuovere la crusca; dei principali costituenti, l'endosperma è quello che viene trasformato in sfarinato mentre le restanti frazioni vanno a costituire i sottoprodotti della macinazione.

Figura 2. Laminatoi



Affinché il processo prosegua in maniera ottimale è necessario che l'operazione di rottura avvenga gradualmente.

In sostanza, il processo di macinazione si effettua attraverso le seguenti operazioni:

- 1) apertura del chicco al fine di rimuovere l'endosperma;
- 2) rimozione delle particelle con componenti fibrose;
- 3) macinazione dell'endosperma con conseguente riduzione in farina;
- 4) setacciatura dei prodotti intermedi delle particelle derivanti dalla macinazione al fine di separare tutte le particelle di granulometria grossa che richiedono un'ulteriore processo di macinazione.

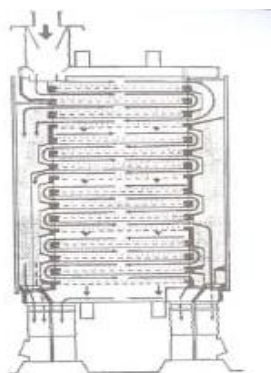
Si tratta di una macinazione che avviene in maniera ripetitiva e durante la quale la mandorla, essendo di natura friabile, si apre facilmente e quindi si frantuma, si tritura e

si schiaccia, mentre le componenti corticali oppongono maggiore resistenza all'azione meccanica dei rulli macinanti grazie alla loro struttura fibrosa, restando sostanzialmente integre.

La separazione specifica della mandorla avviene grazie alla sua composizione, che differisce da quella del germe e del tegumento. La separazione non avviene mai in maniera netta e totale, pertanto nei sottoprodotti della macinazione si trovano parti di endosperma mentre nella farina sono presenti piccole quantità di particelle tegumentali.

La classificazione dimensionale, o stacciatura, viene effettuata con particolari macchine denominati plansichters, che presentano una serie di setacci piani, detti buratti, con maglie adeguate alla granulometria che si vuole ottenere.

Figura 3: Plansichters



Le semole si distinguono in “vestite”, e in questo caso alla mandorla farinosa sono rimaste adese le parti relative alla crusca, o “nude”; in questo caso le frazioni vengono separate tenendo conto della dimensione e del peso specifico, utilizzando le semolatrici, le quali operano in corrente d'aria.

Quindi, le semole vestite subiscono un ulteriore passaggio di svestimento, attraverso laminatoi finemente rigati, ed un ulteriore passaggio in plansichters, mentre le semole nude sono destinate direttamente alle operazioni di rimacina, effettuate con i cilindri lisci. Le rimacine rappresentano i passaggi finali di macinazione, con funzione di riduzione in semola e farina.

Generalmente la resa percentuale di macinazione, espressa in chilogrammi di sfarinato ottenuta da 100 chilogrammi di grano, si aggira intorno a 74 kg per il grano tenero e 70 kg per il grano duro.

1.3.1. I sottoprodotti del frumento duro

Dal processo di molitura del grano, i prodotti che si ottengono sono la semola per il frumento duro e la farina per il frumento tenero, mentre, dal punto di vista commerciale, i sottoprodotti e residui della molitura sono distinti, anche sulla base della fase di lavorazione dalla quale provengono, in:

- crusca, costituita da scaglie larghe e ben distinte, di forma irregolare e colore marrone;
- cruschetto, costituito da scaglie più piccole, in parte polverizzate e di colore più chiaro rispetto alla crusca;
- tritello, composto da particelle più o meno finemente triturate;
- farinaccio e farinetta, residui degli ultimi processi di preparazione della farina bianca.

Tali residui costituiscono il 25-30% del frumento lavorato, e precisamente la crusca il 10-11%, il cruschetto il 5-6%, il tritello l'8-9% e la farinetta il 2-3% (Piccioni, 1989).

Generalmente si attribuisce poca importanza al germe ed ai cruscami di frumento, malgrado la loro notevole incidenza sul peso totale della cariosside. Questo in conseguenza del valore economico che si attribuisce al frumento molito, sul quale queste frazioni incidono esclusivamente per una percentuale del 10 % circa (Fulcher & Duke, 2002).

I sottoprodotti che si generano dal processo di molitura del frumento si differenziano principalmente per la composizione chimica e soprattutto per i relativi contenuti in fibra e in amido: più il residuo deriva da una porzione prossima al cuore della granella, più si abbassa il contenuto in fibra e aumenta quello di amido e, quindi, più si avvicina alle caratteristiche della farina.

Come riportato, la crusca si ottiene dall'abburattamento, ovvero dalla rottura dei semi operata con successivi passaggi del frumento fra i cilindri rigati dei laminatoi; è costituita principalmente dal tegumento della cariosside, contenente cellulosa, a cui, a seconda del grado del sistema di molitura usata, aderiscono quantità più o meno rilevanti di frazioni provenienti dalla parte interna della cariosside. La crusca maggiormente utilizzata in zootecnia è certamente quella di frumento, anche se si può ottenere dagli altri cereali come mais, orzo, segale e avena (Piccioni, 1989).

Il cruschello deriva dalla svestitura delle semole; queste, rimacinate e abburattate, danno poi i sottoprodotti più fini, ovvero tritello, farinaccio e farinetta.

Crusca e cruschello sono spesso ritenuti la stessa cosa, mentre presentano delle marcate differenze, poiché la crusca rappresenta lo strato più esterno della cariosside di frumento, mentre il cruschello quello sottostante. Visivamente, la crusca ha l'aspetto di particelle di maggiore superficie e spessore, forma irregolare e colore marrone; il cruschello invece è costituito da particelle più piccole, più sottili e di colore più chiaro. Cruschello e tritello si distinguono dalla crusca per il loro aspetto, e anche perché generalmente contengono una buona quantità di amido. Il tritello si può facilmente confondere con il farinaccio non solo per l'aspetto ma anche per la composizione, poiché entrambi possiedono un alto contenuto in amido.

La tabella 5 riporta i parametri chimico-nutrizionali medi dei sottoprodotti del frumento duro.

Tabella 5. Composizione chimica (% SS) e digeribilità della sostanza organica (%) dei sottoprodotti del frumento duro

	Crusca	Cruschello	Tritello	Farinaccio	Farinetta
Sostanza secca	92	88	88	88	88
Proteina grezza	7,6	17,3	19,5	17,8	14,9
Estratto etereo	2,9	5,7	4,2	5,3	3,5
Ceneri	1,3	6,2	5,4	4,0	1,7
NDF	55,6	49,7	35,1	25	11,14
ADF	12,8	14,3	13,7	6,9	2,50
ADL	0,8	3,1	4,0	1,5	0,45
Amido	18,2	23,9	35,3	48	62,8
Zuccheri	2,2	6,9	9,1	8,4	5
Digeribilità SO	65,0	66,6	74,7	81,2	92,4

da Martillotti et al. (1996) e Cevolani (2005)

Tritello, farinaccio e cruschello risultano maggiormente dotati in proteina grezza. Il contenuto in estratto etereo oscilla da un valore di 2,9% per la crusca sino ad un valore di 5,7% nel cruschello. Il contenuto in sostanze minerale risulta abbondante in

cruschello, tritello e farinaccio. La crusca, in particolare, rappresenta una buona fonte di fibra (Møller et al., 1988), precisamente di NDF, e amido, mentre presenta un limitato livello di proteine.

Come è possibile osservare dai dati riportati nella tabella 6, tutti i sottoprodotti di molitura del frumento duro sono caratterizzati da un buon contenuto minerale, dovuto a fosforo, principalmente legato in forma organica, potassio e manganese, e risultano anche ben dotati in vitamine del gruppo B (B1, B2, B6).

Tabella 6. Contenuto dei minerali (g/100 g di SS) e vitamine (mg/kg di SS) dei sottoprodotti del frumento duro.

	Crusca	Cruschello	Tritello	Farinaccio	Farinetta
Ca	0,03	0,15	1,02	0,10	0,07
P	0,22	1,06	0,86	0,49	0,44
Mg	0,28	0,60	0,36	0,26	0,17
K	0,70	1,11	1,14	0,29	0,43
Mn	0,002	0,013	0,012	0,006	0,007
Vit. B1	5,2	19,4	22	17	26
Vit. B2	1,6	3	3	1,7	1,9
Vit. B6	8,3	6,5	8		5,3
Vit. PP	42	117	115	74	59,7
Acido Pantotenico	6	23	23	14,2	15
Biotina	0,1	0,1		0,11	0,1

da Martillotti et al. (1996)

2. La crusca

2.1. Struttura della crusca di frumento

La crusca costituisce il rivestimento esterno della cariosside del frumento che dal punto di vista anatomico prende il nome di pericarpo (Balandrán-Quintana et al., 2015). Morfologicamente distinguiamo tre strati: epidermide, ipoderma e strato interno. A seguire verso lo strato interno troviamo il tegumento, spessa cuticola in cui sono concentrati i pigmenti che conferiscono il colore al grano, al quale è adeso un altro strato, l'epidermide nucellare o strato ialino. Collegata a quest'ultima frazione vi è lo strato aleuronico, che fa parte dell'endosperma, ma il più delle volte è considerato come la patina più interna della crusca, proprio perchè vi rimane adesa dopo la macinazione (Xiong et al., 2013).

2.2. Composizione chimica della crusca

La crusca di frumento rappresenta una riserva di nutrienti grazie alla quantità e qualità delle proteine, al contenuto in minerali, in vitamine del complesso B e di fibre alimentari.

Essendo costituita dalle porzioni degli involucri della cariosside vi sono cellule dotate di una spessa parete cellulare. Il carboidrato strutturale che assicura rigidità alla parete cellulare è la cellulosa, polimero costituito da unità di glucosio legate tra loro dal legame glicosidico indicato come β 1-4; trattasi di un legame diverso da quello dell'amido, pertanto si rivela inattaccabile dai sistemi enzimatici amilolitici, risultando invece utilizzabile dalle specie poligastriche per l'opera della microflora ruminale. La cellulosa rappresenta una frazione importante della fibra alimentare (Parker et al., 2005), di cui è noto l'effetto positivo sulla motilità della peristalsi intestinale umana (Bonsi, 2012).

Un altro componente importante della parete cellulare è rappresentato dalla frazione dei pentosani, polisaccaridi che originano dalla condensazione di più molecole di pentosi; questi costituiscono la parte della fibra non cellulosica nei sottoprodotti dell'industria molitoria dei cereali (25-40% sul secco) (Benamrouche et al., 2002) e, unitamente alla lignina e alle emicellulose, esplicano una funzione meccanica di sostegno.

La stessa crusca possiede molte proteine di elevata qualità, ma la gran parte di esse sono racchiuse all'interno di una matrice di polisaccaridi della parete cellulare, risultando così poco digeribili dall'uomo. Ciò porterebbe uno spreco annuo di 15,5 milioni di tonnellate di proteine (Balandrán-Quintana et al., 2015), se questi prodotti non fossero usati per l'alimentazione dei ruminanti che, come è noto, attraverso la microflora ruminale riescono ad utilizzare i carboidrati strutturali rendendo, in questo caso, disponibili le proteine protette. Si stima mediamente che la distribuzione delle proteine nel frumento è pari a circa 22,9, 5,7 e 5,1% rispettivamente per lo strato aleuronico, il tegumento e il pericarpo (Shewry et al., 2009).

Quindi, anche se in misura minore rispetto alle altre parti della cariosside di frumento, anche la crusca è una buona fonte di proteine.

2.3. Profilo nutrizionale e salutistico della crusca

Nella tabella 7 è riportato il profilo amminoacidico della crusca di frumento duro (USDA, 2014).

Principalmente le proteine del frumento sono costituite da gluteline, albumine, prolamine e globuline (Idris et al., 2003).

La composizione proteica della crusca di frumento presenta un valore aggiunto, dovuto alla presenza congiunta di aminoacidi liberi e dell'aminoacido gamma-aminobutirrico (GABA), aminoacido non essenziale che svolge però un ruolo fondamentale per il sistema nervoso centrale e per il funzionamento del cervello umano (Balandrán-Quintana et al., 2015).

Per la loro composizione, i sottoprodotti dell'industria molitoria del frumento duro costituiscono validi componenti per la creazione di prodotti alimentari arricchiti in amminoacidi a catena ramificata. La crusca di frumento costituisce un serbatoio di peptidi con proprietà bioattive, in quanto dotate di proprietà antimicrobiche, antitrombotiche, antipertensive, osteoprotettive, antiossidanti e di immunomodulazione (Möller et al., 2008).

Tabella 7. Composizione amminoacidica della crusca di frumento (mg/100 g tq) (USDA, 2014)

Triptofano	282
Tirosina	500
Isoleucina	486
Leucina	928
Lisina	600
Metionina	234
Cisteina	371
Fenilalanina	595
Tirosina	436
Valina	726
Arginina	1087
Istidina	430
Alanina	765
Acido aspartico	1130
Acido glutammico	2874
Glicina	898
Prolina	882
Serina	684

I peptidi trovano applicazione nel campo della tecnologia alimentare, in quanto sono stati utilizzati, ad esempio, per inibire l'attività dell'enzima polifenolo-ossidasi presente nelle mele Red Delicious (Campas-Ríos et al., 2012), enzima coinvolto nello sviluppo dell'imbrunimento enzimatico sia della frutta che della verdura (Ramírez et al., 2009).

Inoltre, con molta probabilità, una proteina presente nell'estratto acquoso della crusca di frumento potrebbe essere responsabile dell'inibizione della lipasi gastrica (O'Connor et al., 2003), enzima che ha un ruolo chiave nel metabolismo dei lipidi.

Quindi, in prospettiva, per le proteine della crusca di frumento, in virtù della loro biocompatibilità, sono prevedibili nuovi usi nella tecnologia alimentare perché consentono di trasportare in cellule e tessuti specifici composti bioattivi (Neethirajan e Jayas, 2011).

Tabella 8. Composizione vitaminica e minerale della crusca di frumento. (USDA 2014)

Vitamine		
A	UI	9,0
E	mg/100 g	1,5
K	µg/100 g	1,9
Tiamina	mg/100 g	0,5
Riboflavina	mg/100 g	0,6
Niacina	mg/100 g	13,6
B6	mg/100 g	1,3
Folato	µg/100 g	79
Acido pantotenico	mg/100 g	2,2
Colina	mg/100 g	74
Minerali		
Ca	mg/100 g	73
Fe	mg/100 g	10
Mg	mg/100 g	611
P	mg/100 g	1013
K	mg/100 g	1182
Na	mg/100 g	2
Zn	mg/100 g	7
Cu	mg/100 g	1
Mn	mg/100 g	11
Se	µg/100 g	77

Nella tabella 8 è riportata la composizione vitaminica e minerale della crusca di frumento. La crusca contiene quantità molto basse di sodio e buoni livelli di potassio, fosforo, magnesio, calcio, ferro e selenio. Inoltre è una buona fonte di vitamine in particolare B6, niacina, tiamina e riboflavina.

Per quanto concerne invece la composizione dei grassi contenuti nella crusca, Kumar and Krishna (2013) hanno riscontrato un livello elevato di acidi grassi polinsaturi (soprattutto acido linoleico) e basso in acidi grassi saturi (tabella 9).

Tabella 9. Caratteristiche dell'estratto dell'olio di crusca di frumento

Numero perossidi	meqO ₂ / kg	9,91
C16:0	%	18,9
C18:0	%	0,4
C18:1	%	16,4
C18:2	%	50,6
C18:3	%	5,5

2.4. Contenuto in composti antiossidanti

Con il termine antiossidante si definiscono tutte le molecole o sostanze in grado di contrastare i fenomeni legati ai processi ossidativi; secondo la definizione di Halliwell e Whiteman (2004), sono “sostanze che, in basse concentrazioni rispetto al substrato ossidabile, e sotto certe specifiche condizioni, sono in grado di ritardare o prevenire l'ossidazione del substrato stesso”.

In altri termini, per antiossidante si intende una sostanza chimica, prodotta artificialmente o presente in natura, che interviene sull'attività delle specie radicaliche attraverso il meccanismo chimico della donazione di elettroni o di atomi d'idrogeno in modo da favorire la formazione di altre forme più stabili e quindi meno reattive, oppure che, in alternativa, si lega a ioni metallici (rame, ferro) coinvolti nel processo di catalisi del meccanismo ossidativo dei lipidi (Kaur e Kapoor, 2001).

Nella crusca sono presenti diverse importanti sostanze antiossidanti, come riportato da Zhou et al. (2004) e McKeehen et al. (1999), costituite da tocotrienoli, tocoferoli, carotenoidi e polifenoli (Zielinski & Kozłowska, 2000).

Diversi composti polifenolici, fra i quali ricordiamo gli acidi ellagico, idrossibenzoico, caffeico, ferulico e sinapico, sono stati rilevati da Arranz e Calixto (2010) nella crusca di frumento in misura notevole, pari a 161,7 mg/100 g di prodotto.

Nella crusca, in particolare, per la sua elevata bio-attività, fra i polifenoli si distingue l'acido ferulico, che rappresenta fino al 90% del totale degli acidi fenolici (Hemery et al., 2007).

L'acido ferulico, così come gli altri composti fenolici, è presente nella crusca sotto la forma legata, coniugata e libera, che si distinguono in funzione della biodisponibilità

per l'uomo. La biodisponibilità, inoltre, varia in funzione della specie animale utilizzatrice in quanto i ruminanti, come è noto, hanno la capacità di utilizzare le sostanze fibrose come la crusca e quindi probabilmente sono in grado di utilizzare maggiormente anche le frazioni coniugate e legate.

L'attività antiossidante della crusca di frumento duro è paragonabile a quella di frutta e verdura (Esposito et al, 2005; Borrelli et al., 2004). Il pane integrale possiede un potere antiossidante, generato dalla presenza della crusca, che è quasi il doppio rispetto al pane bianco (Miller et al., 2000).

Laddomada et al. (2015) hanno analizzato il contenuto in acidi fenolici della frazione legata, coniugata e libera in 5 cultivar di frumento duro italiane (Ciccio, Duilio, Svevo, Iride, Aureo). Dall'analisi è emerso che l'acido ferulico è tra gli acidi fenolici più abbondante.

La frazione legata, indisponibile per l'uomo, rappresenta circa il 78% del totale degli acidi fenolici (Tabella 10) e varia da 302,09 a 431,67 µg/g di SS. Oltre all'acido ferulico, sono stati rilevati altri acidi fenolici legati, come l'acido p-cumarico, il vanillico, il siringico ed il 4-idrossibenzoico. L'acido sinapico è risultato fra quelli maggiormente presenti in forma coniugata, seguito dall'acido ferulico, dal vanillico, dal siringico, e dagli acidi 4-idrossibenzoico e p-cumarico. Infine, tra gli acidi fenolici liberi, il più rappresentato ritorna ad essere l'acido ferulico (variabile da 1,41 a 1,69 µg / g di SS).

Tabella 10. Contenuto in acidi fenolici della frazione legata, coniugata e libera nella farina integrale di cultivar di frumento duro italiane ($\mu\text{g/g}$ di SS)

	Ciccio	Duilio	Svevo	Iride	Aureo
Acido ferulico:					
Legato	408,54	431,67	333,60	345,61	302,09
Coniugato	23,21	26,32	28,92	22,71	27,55
Libero	1,41	1,62	1,57	1,60	1,69
Acido p-cumarico:					
Legato	8,72	11,25	5,88	7,92	8,47
Coniugato	0,85	0,62	0,44	0,51	1,05
Libero	0,87	0,85	0,76	0,70	0,80
Acido vanillico:					
Legato	5,02	5,21	3,85	3,24	4,55
Coniugato	4,44	5,79	5,08	4,66	5,80
Libero	1,43	1,62	1,36	1,36	1,58
Acido siringico:					
Legato	4,71	3,87	3,04	2,71	1,19
Coniugato	1,78	2,23	2,45	1,64	1,11
Libero	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Acido 4-idrossibenzoico					
Legato	0,61	0,87	0,87	0,71	0,37
Coniugato	1,23	1,75	2,67	3,21	1,98
Libero	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Acido sinapico:					
Legato	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Coniugato	79,12	74,09	86,38	76,83	107,39
Libero	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

La crusca di frumento contiene anche dimeri dell'acido ferulico, potenti antiossidanti legati ai polisaccaridi della parete cellulare. Questi ultimi possiedono la funzione di rafforzare le pareti dello strato aleuronico, durante la fase di maturazione del frumento, attraverso la formazione di ponti tra le catene di arabinoxilani, costituendo una barriera fisica contro l'attacco di microrganismi e insetti (Nacz & Shahidi, 2006).

Come accennato, il frumento duro è anche una riserva in altri composti antiossidanti come i tocoli, i tocoferoli ed i tocotrienoli, che esplicano un'azione inibitrice dei processi infiammatori e di lesione dei tessuti (Gianotti et al., 2011). Tali

composti liposolubili agiscono efficacemente come “quenchers” dell’ossigeno e dei radicali dell’ossido d’azoto (Lampi et al., 2008). I quenchers, che in italiano possono anche definirsi disattivanti, reagiscono quindi soprattutto con l’ossigeno portandolo dallo stato eccitato di singoletto, molto reattivo, alla forma più stabile.

I tocoli bloccano le reazioni di ossidazione dei lipidi polinsaturi e agiscono come antiossidanti naturali svolgendo un’azione simile a quella della vitamina C. Kwon et al. (2010) hanno riportato che la crusca di frumento contiene da 63 a 210 mg/100 g di tocoli totali. L’olio della crusca di frumento presenta un alto contenuto in tocotrienoli totali e un basso contenuto in tocoferoli (tabella 11). Nell’olio di crusca sono presenti anche carotenoidi costituiti principalmente da luteina e β -carotene.

Tabella 11. Profilo in tocoferoli e carotenoidi dell’olio di crusca di frumento (mg/100 g)

Tocoferoli	202
α tocofenolo	18,63
α tocotrienolo	8,17
γ tocofenolo	12,92
γ tocotrienolo	161,24
Carotenoidi	2,22
Luteina	0,39
β -carotene	0,22
altri carotenoidi	1,60

Nella tabella 12 è riportata la localizzazione dei principali isomeri della vitamina E nei diversi strati della cariosside. Essendo i tocoli maggiormente concentrati nel germe e negli strati esterni della cariosside, i processi di molitura determinano un significativo impoverimento di tali composti bioattivi negli sfarinati (Tiwari & Cummins, 2009).

Tabella 12. Contenuto in tocoli in differenti sezioni di molitura del frumento (mg/kg)
(Tiwari & Cummins, 2009)

	α Tf	β Tf	γ Tf	δ Tf	α Tt	β Tt	δ Tt
Crusca	24,2-26,6		30,2-32,2	0,5-0,7			0,2
Germe	177,7-181,6	65,6	6,2	0,1	2,6-3,0	15,6	0,1
Farina	9,6	4,5			3	15,7	

Tf=Tocoferoli; Tt=Tocotrienoli.

Sia nella crusca che nel germe è presente un'altra classe di antiossidanti quali i flavonoidi, il cui contenuto è 10-15 volte maggiore rispetto al contenuto dell'endosperma. In particolare, nei cereali sono presenti flavanoli, flavonoli e antocianine. Questi, così come la gran parte dei flavonoidi, si trovano legati alle macromolecole della parete cellulare, ma rispetto agli acidi fenolici, si trovano in forma libera (Gioia, 2014).

Tutti questi composti minori presenti nella crusca, presenti in quantità notevoli nell'olio della crusca di frumento, potrebbero renderne interessante l'uso alimentare per favorire gli effetti nutraceutici sull'organismo umano.

3. L'impiego della crusca nell'alimentazione zootecnica

La crusca, il cruschello e la farinetta sono validi ingredienti utilizzati per l'alimentazione dei ruminanti, sia per la loro composizione chimica sia perché permettono una riduzione dei costi di alimentazione favorendo la valorizzazione delle risorse locali (Hartwell et al., 2010).

Fra questi la crusca di frumento duro è un alimento largamente impiegato nell'alimentazione zootecnica, anche in virtù della disponibilità nei mercati del Sud Italia e per il basso prezzo che ne favoriscono l'utilizzazione, soprattutto nelle fasi congiunturali in cui gli altri alimenti fibrosi hanno prezzi elevati. Tuttavia, la conservazione prolungata nel tempo non è consigliata in quanto tende ad ammuffire ed i grassi in essa contenuti si ossidano facilmente (Cevolani, 2005).

Si presta molto bene per la preparazione di beveroni e pastoni, sia da sola che in combinazione con altri sfarinati. Inoltre, ai mangimi a base di cruscami è riconosciuta l'influenza positiva sulla funzione digestiva grazie al loro contenuto in pentosani e cellulosa.

In conseguenza della sua ridotta digeribilità, nonché del modesto valore nutritivo, è preferibile utilizzarla nell'integrazione della razione dei bovini, dai quali si ottengono buoni risultati soprattutto in riferimento alla produzione di latte.

Nei vitelloni da carne si possono prevedere le seguenti somministrazioni: nel primo periodo d'ingrasso fino a 5 kg di crusca al giorno, successivamente questa dose dovrebbe essere dimezzata in quanto, specialmente per i bovini caratterizzati da elevate performance di accrescimento, può provocare una riduzione dell'incremento ponderale giornaliero (Piccioni, 1989).

Per quanto riguarda i suini, la somministrazione della crusca è particolarmente indicata durante la fase di sviluppo dell'apparato scheletrico e del tubo digerente; risulta però fondamentale integrare la razione di crusca con alimenti ricchi in calcio in quanto, essendo carente di tale minerale, può predisporre al rachitismo. Ai suini all'ingrasso viene somministrata in maniera moderata e gradualmente eliminata dalla razione in quanto, favorendo la peristalsi intestinale, provoca una riduzione dell'utilizzo dei nutrienti con una conseguente diminuzione degli accrescimenti. Per le scrofe, una quantità dell'ordine del 5-10% della miscela favorisce la digestione, ha una buona

azione lassativa e, per l'adeguato apporto di selenio, risulta un alimento utile durante la fase riproduttiva.

Per quanto concerne le specie avicole, l'abbondante uso di questo alimento trova la sua giustificazione nella sua appetibilità e voluminosità che sazia rapidamente gli animali. La dose massima consigliata è pari al 10% per la miscela dei pulcini ed al 20-25% per quella destinata a pollastre ed ovaiole. Queste quantità inibiscono la perosi dei giovani polli e svolgono un'azione favorevole sullo sviluppo e sulla resistenza del piumaggio (Piccioni, 1989).

3.1. Effetti della crusca sulle prestazioni delle specie zootecniche

A causa del frequente utilizzo nelle razioni delle specie zootecniche, la crusca di frumento duro è stata frequentemente utilizzata nelle sperimentazioni animali al fine di validarne l'uso per le diverse specie zootecniche e per l'ottenimento di carne e latte.

La componente energetica nella maggior parte delle razioni alimentari per le specie zootecniche è rappresentato per il 40-50% da cereali e principalmente da mais. La sostituzione di queste granaglie con alimenti alternativi come la crusca risulta importante, soprattutto nei paesi in via di sviluppo, anche perché i cereali potrebbero essere utilizzati direttamente per il consumo umano con una migliore efficienza energetica. Inoltre i cereali sono ingredienti costosi dei mangimi e di conseguenza il loro inserimento nella razione spesso aumenta il costo delle produzioni animali. La sostituzione dei cereali con la crusca dovrebbe riguardare soprattutto le razioni delle specie ruminanti in quanto i monogastrici, come suini ed avicoli utilizzano male gli alimenti ricchi di fibra mentre impiegano le diete ricche di energia con una maggiore efficienza.

L'utilizzazione della crusca, così come quella dei sottoprodotti in generale, risulta sempre più interessante ed utile anche per altri motivi, legati al notevole aumento della popolazione mondiale previsto nei prossimi decenni. A questo dovrebbe corrispondere un aumento della produzione di alimenti edibili per l'uomo, cosa difficilmente ottenibile a causa del già raggiunto limite delle terre arabili utilizzate nel pianeta. Questo comporta che si rivolgono critiche nei confronti dei sistemi di allevamento intensivi in quanto, come è noto, le specie zootecniche, e fra questi ancor di più i ruminanti,

utilizzano i mangimi, che contengono granaglie potenzialmente utilizzabili direttamente dall'uomo, come mais e soia, peraltro con una scarsa efficienza.

Secondo Cassidy et al. (2013), l'89 % delle calorie prodotte dalle colture vegetali utilizzate negli allevamenti intensivi si perdono e non si ritrovano nei prodotti di origine animale. Tuttavia, se gli animali si alimentano con fonti non edibili per l'uomo, con le loro produzioni potrebbero invece fornire un guadagno netto di alimenti, a elevato valore biologico, disponibili per l'uomo. Con la loro capacità di convertire i vegetali fibrosi in prodotti di origine animale di alta qualità, i ruminanti hanno sempre giocato un ruolo primario in tale ambito, anche se, negli allevamenti intensivi moderni, le elevate performance degli animali hanno reso necessario la somministrazione di elevate quantità di cereali e leguminose, soprattutto alle vacche da latte, con l'aumento della competizione per tali risorse tra le bovine e gli esseri umani (Knaus, 2009, 2013). In considerazione di ciò, Wilkinson (2001) ha calcolato l'indice di conversione degli alimenti edibili per l'uomo (eFCR, edible feed conversion ratio) calcolando gli input edibili per l'uomo (alimenti consumati dalle specie zootecniche, ma potenzialmente utilizzabili dall'uomo) e gli output edibili per l'uomo, rappresentati dai prodotti di origine animale.

Oltjen e Beckett (2006) sono stati i primi ad analizzare le razioni delle bovine da latte in considerazione di tale rapporto. I loro risultati hanno mostrato che, per le bovine che ricevono il 50% di concentrati, l'output di alimenti utilizzabili dall'uomo in forma di carne e latte era inferiore all'input degli alimenti potenzialmente utilizzabili direttamente dall'uomo (57 e 96% per l'energia e le proteine, rispettivamente). In altre parole, queste bovine consumano più cibo per l'uomo di quanto ne producano. In questo contesto, il potenziale dei sottoprodotti per migliorare il rapporto eFCR è al centro dell'attenzione da parte della ricerca in campo zootecnico. Bradford (1999) ha stimato che l'offerta mondiale di sottoprodotti potrebbe sostenere potenzialmente la produzione di 500 milioni di tonnellate di latte, quindi la loro utilizzazione potrebbe essere strategicamente utile per essere meno dipendenti da cereali e semi oleosi, che diventeranno sempre più importanti nella nutrizione umana del futuro.

Ertl et al. (2016) hanno condotto una sperimentazione per valutare gli effetti dell'utilizzazione di sottoprodotti inutilizzabili direttamente dall'uomo, come le polpe di barbabietola e la crusca di frumento in sostituzione di un concentrato convenzionale a

base di cereali e leguminose, sulle performance di bovine da latte nella seconda fase di lattazione. Le razioni alimentari prevedevano una base comune ricca di foraggi, costituito da insilato di erba e fieno. Gli autori hanno riscontrato che l'utilizzazione dei sottoprodotti non ha compromesso l'ingestione alimentare e le prestazioni produttive degli animali ed ha migliorato fortemente gli indici di efficienza di utilizzazione degli alimenti come eFCR e la produzione di proteine ad elevato valore biologico. Vantaggi sono stati ottenuti anche nell'ambiente ruminale degli animali in quanto, com'è noto, la composizione microbiologica ruminale ed il pH migliorano fortemente all'aumentare dalla componente fibrosa apportata con la razione (Ertl et al., 2015).

Tuttavia, questi risultati sono stati ottenuti in bovine che si trovavano nella parte centrale della lattazione, con produzioni medie di latte pari a 23 kg/d, e non è certo che possano replicarsi in coincidenza del picco di lattazione e in bovine caratterizzate da elevate produzioni.

La crusca di frumento potrebbe essere considerata come una valida risorsa anche nel caso dell'integrazione dell'alimentazione degli animali al pascolo. Con tale obiettivo Khalilia and Sairanenb (2000) hanno condotto una sperimentazione su bovine di razza Frisona nella fase del periparto utilizzando tre trattamenti alimentari al fine di valutare l'effetto del tipo di concentrato sulle fermentazioni ruminali e sulla produzione di latte. I trattamenti consistevano nell'utilizzazione esclusiva del pascolo e nell'integrazione con due concentrati, il primo a base di orzo ed il secondo costituito da una miscela di cereali contenente anche crusca di frumento e polpa di barbabietola da zucchero. L'integrazione con il concentrato contenente crusca di frumento ha comportato una maggiore produzione di latte da parte delle bovine ed una minore e più opportuna concentrazione ammoniacale a livello ruminale. Questo potrebbe risolvere un problema notevole che si verifica quando le bovine utilizzano il pascolo di erbe giovani, a causa dell'elevata fermentescibilità dell'azoto di queste ultime. L'utilizzazione della crusca, concentrato caratterizzato da un più adeguato contenuto in fibra, potrebbe essere ipotizzato quindi anche per le bovine al pascolo, in quanto il miglioramento dell'ambiente del rumine e delle fermentazioni che lì avvengono comporta una più efficiente utilizzazione dell'azoto proveniente dagli alimenti.

Sostituendo al 50% ed al 100% il mais con la crusca di frumento, nel concentrato di agnelli all'ingrasso per 120 giorni, Dhakad et al. (2002) sono arrivati alla conclusione

che l'utilizzazione della dose intermedia di sostituzione (50%) potrebbe rappresentare una strategia sicura ed economicamente vantaggiosa poiché non manifesta effetti negativi sulla digeribilità e sull'ingestione dei nutrienti, non influenza l'ingestione alimentare negativamente e, soprattutto, abbassa i costi alimentari per unità di peso vivo prodotto, calcolati utilizzando il prezzo di mercato delle miscele impiegate e l'incremento del peso vivo degli animali durante la sperimentazione. In questa prova, per il gruppo di agnelli che usufruiva della crusca con il livello intermedio di sostituzione, è stato registrato un incremento ponderale giornaliero (IPG) di 85-90 g, mentre l'incremento in peso si è ridotto notevolmente negli animali alimentati con il dosaggio più elevato di crusca. I risultati sopra descritti concordano con quelli ottenuti da Abii et al. (1993) i quali, inserendo la crusca in diverse quantità ed in sostituzione del mais nelle razioni alimentari di agnelli, hanno rilevato delle performance di crescita ottimali con il 30% di crusca nella dieta mentre, quando il livello d'inclusione superava il 60%, si è manifestata una diminuzione degli incrementi ponderali giornalieri. Anche tali risultati indicano che esiste una soglia per l'inclusione della crusca di frumento nella dieta di animali in accrescimento al di sopra della quale essa può avere un effetto negativo sulle prestazioni di crescita.

In un'altra prova, Giannico et al. (2014), hanno valutato l'effetto prodotto da razioni alimentari contenenti farinetta in associazione con crusca o cruschetto (utilizzati in sostituzione della polpa di barbabietola essiccata), sulle performance produttive di agnelli di razza Gentile di Puglia macellati a 75 e 90 giorni di età. L'integrazione con crusca o cruschetto non ha condizionato le performance di accrescimento degli agnelli, mentre gli animali macellati a 90 giorni, rispetto a quelli che usufruivano della polpa di barbabietola nella razione, hanno mostrato una significativa diminuzione della resa netta in carne, dovuta probabilmente alla maggiore incidenza dell'apparato gastro-enterico.

Tufarelli et al. (2011) hanno invece valutato, in agnelli di razza Comisana macellati ad una età di 100 giorni e dopo 50 giorni di ingrasso, una dieta a base di cruschetto di grano duro in sostituzione di una razione convenzionale a base di granella di mais. L'alimentazione del gruppo sperimentale, a base di cruschetto, ha determinato il raggiungimento di pesi di macellazione più elevati e migliori indici di conversione oltre che una più favorevole resa di macellazione. Gli autori, quindi, concludono affermando che l'integrazione alimentare degli agnelli all'ingrasso con cruschetto di

frumento è possibile e consigliabile anche in considerazione del più basso prezzo di acquisto del sottoprodotto. Negli ultimi anni infatti la granella di mais, commodities agricola fra le più scambiate al mondo, è stata caratterizzata da una elevata volatilità dei prezzi a causa anche di speculazioni da parte dei mercati finanziari. Tale tendenza non sembra nell'immediato facilmente modificabile e quindi l'utilizzazione degli eventuali sostituti del mais potrebbe risultare ancora più utile, soprattutto in quelle fasi in cui la quotazione del mais raggiunge prezzi di mercato elevati.

Altri autori (Singh et al., 1998) hanno invece preso in considerazione la sostituzione parziale (50%) e totale della granella d'orzo con la crusca di frumento nel concentrato somministrato alle pecore, per valutarne l'ingestione e l'utilizzazione dei nutrienti. Anche in questo caso la sostituzione totale della granella di orzo con la crusca ha peggiorato i parametri relativi alla digeribilità della razione, a causa del più elevato contenuto di fibra della crusca rispetto all'orzo, mentre le pecore alimentate con la crusca somministrata nella dose intermedia hanno fatto registrare parametri molto simili al gruppo alimentato con l'orzo.

In definitiva, l'inserimento nelle razioni alimentari dei ruminanti dei sottoprodotti industriali, come la crusca di frumento, rappresenta una valida alternativa, non solo perché sono facilmente reperibili localmente ma anche perché migliorano l'efficienza di utilizzazione degli alimenti, in termini energetici e proteici, soddisfacendo al contempo le esigenze dell'ecosistema ruminale grazie al loro apporto in carboidrati strutturali (Arthington et al., 2002).

4. I polifenoli nell'alimentazione zootecnica

I polifenoli costituiscono un gruppo eterogeneo di composti costituito da oltre 8000 molecole (Bravo, 1998) e rappresentano una delle principali classi di metaboliti secondari delle piante, molto diversificati nella loro struttura, ma tutti caratterizzati dalla presenza di un anello aromatico benzenico con uno o più costituenti ossidrilici. Nella gran parte dei casi, accanto al gruppo ossidrilico -OH fenolico, sono presenti dei gruppi funzionali che ne influenzano le proprietà fisico-chimiche, come l'attività antiossidante, le specifiche interazioni con alcuni enzimi (Middleton et al., 2000) e la biodisponibilità, intesa sia come frazione di sostanze assorbite dall'organismo che come velocità di assorbimento (Monticelli, 2009).

Le sostanze polifenoliche sono state quantificate in misura variabile in molte piante commestibili in funzione della specie, della varietà, dell'organo considerato, dello stadio fenologico e delle condizioni pedoclimatiche ed ambientali.

La grande variabilità della struttura dei polifenoli è correlata alle svariate funzioni di difesa che svolgono nelle piante come, ad esempio, quella antimicrobica, antifungina, di difesa dagli insetti, quella schermante dai raggi ultravioletti solari, antiossidante nei confronti dei radicali liberi prodotti durante i processi di fotosintesi, chelante di neutralizzazione dei metalli pesanti eventualmente assorbiti. Uno dei meccanismi di difesa più efficienti delle piante comporta l'azione dell'enzima ossidasi in grado di modificare ed aggregare le strutture polifenoliche in presenza di ossigeno; tali polimeri di natura polifenolica sono in grado di sigillare il danno nei tessuti vegetali provocati, ad esempio, da attacchi di insetti (Stevenson e Hurst, 2007). Oltre che alle funzioni di difesa, i polifenoli contribuiscono e svolgono un ruolo nel determinismo delle proprietà organolettiche, come colore, odore e sapore, dei prodotti alimentari vegetali (O'Connell e Fox, 2001), apportando un contributo alla definizione del profilo sensoriale; la sensazione di astringenza, per esempio, è generata dalla precipitazione sulla lingua delle glicoproteine salivari che reagiscono con le sostanze polifenoliche ingerite, con successiva sensazione di secchezza e di costrizione per il palato dovuta alla inibizione della funzione lubrificante della saliva (Haslam e Lilley, 1988). Inoltre, il gusto amaro che i polifenoli conferiscono ad alcune specie vegetali rappresenta a volte un meccanismo di difesa contro il morso degli animali al pascolo in alcuni particolari periodi fenologici, come quello riproduttivo.

Fra i polifenoli sono compresi i tannini, composti fenolici di vario peso molecolare e struttura complessa che hanno la capacità di legarsi a polimeri naturali come le proteine e i carboidrati (Mueller-Harvey, 2006). Relativamente alla nutrizione dei ruminanti, i tannini esplicano sia effetti negativi dovuti alla loro azione tossica ed antinutrizionale, sia effetti positivi (Reed, 1995). Molte ricerche confermano i notevoli effetti di tali composti sul tratto gastrointestinale dei ruminanti; i prodotti di degradazione dei tannini idrolizzati assorbiti risultano per lo più tossici per le cellule animali, mentre i tannini condensati presenti nei foraggi in modeste quantità (20-40 g/kg di SS) comportano una migliore utilizzazione delle proteine alimentari da parte dei ruminanti. Ciò è dovuto alla diminuzione della velocità di degradazione delle proteine alimentari nel rumine che, successivamente, potranno essere utilizzate con una maggiore efficienza nell'intestino tenue (Min et al., 2003); nei monogastrici, invece, l'azione dei tannini condensati sulla digeribilità delle proteine è sempre negativa (Akamovic e Brooker, 2005). Questi polifenoli contenuti nei foraggi, inoltre, sembrano avere un effetto positivo sulla salute dei ruminanti che li assumono con l'alimentazione in quanto limitano la crescita dei parassiti gastrointestinali e, attenuando le fermentazioni ruminali, inibiscono l'eventuale insorgenza di meteorismo.

Alla luce delle peculiarità degli alimenti che contengono tannini condensati, e per valutare gli effetti che provocano quando utilizzati per l'alimentazione delle specie zootecniche, negli ultimi anni sono state condotte numerose sperimentazioni.

Bonanno et al. (2013) hanno utilizzato la Sulla (*Sulla coronarium*), specie foraggera leguminosa molto utilizzata nel meridione d'Italia dotata di un adeguato contenuto di tannini condensati, valutando gli effetti della dieta su capre in lattazione. L'utilizzazione del foraggio ha avuto riflessi positivi sulla produzione quanti-qualitativa di latte delle capre, presumibilmente per effetto della riduzione della degradabilità delle proteine nel rumine con un conseguente maggiore assorbimento di amminoacidi nel tratto intestinale.

L'utilizzazione dello stesso foraggio in un'altra sperimentazione (Bonanno et al., 2016) su pecore in lattazione ha favorito una produzione di un latte caratterizzata da un minore rapporto fra gli acidi grassi saturi ed insaturi, determinato dalla parziale inibizione delle bioidrogenazioni provocata dai tannini condensati degli acidi grassi insaturi da parte dei microrganismi ruminali. Gli stessi autori hanno riscontrato come il

consumo di Sulla riduca il numero di nematodi responsabili di infestazioni parassitarie gastrointestinali negli ovini (Bonanno et al., 2007a).

L'integrazione della dieta con estratti di Quebracho, materiale contenente tannini, effettuata da Vasta et al. (2009) in agnelli in accrescimento, ha comportato il miglioramento delle caratteristiche nutraceutiche della carne attraverso un aumento degli acidi grassi polinsaturi e dell'acido linoleico coniugato (CLA), causato probabilmente dalla minore bioidrogenazione degli acidi grassi a livello ruminale; è noto che l'assunzione da parte dell'uomo di alimenti contenenti una maggiore quantità di acidi grassi polinsaturi, e CLA in particolare, risulta benefica per la salute umana.

Mueller-Harvey (2006), tra gli effetti benefici derivanti dall'utilizzazione di alimenti che contengono tannini condensati, segnala, oltre che la maggiore produzione di latte e carne, anche l'aumento della fertilità ed il miglioramento del benessere generale degli animali.

I tannini condensati assunti con l'alimentazione, inoltre, possono giocare un ruolo chiave per ridurre le emissioni di metano da parte dei ruminanti. È stato stimato che, a livello mondiale, i ruminanti ne producono 80 milioni di tonnellate per anno, pari al 28% delle emissioni antropogeniche (Beauchemin et al., 2008). A questo proposito, i tannini rappresentano un promettente gruppo di composti che, integrati nella dieta, inducono la riduzione delle fermentazioni ruminali, e di conseguenza, delle emissioni di metano da parte dei poligastrici (Bhatta et al., 2009).

Anche nei ruminanti però, nel caso di ingestioni di tannini condensati superiori a 50 g/kg di SS, sono state riscontrate diminuzioni di ingestione alimentare, della digeribilità degli alimenti e di produttività degli animali (Aerts et al., 1999).

Oltre ai tannini, un'altra interessante classe di composti polifenolici è rappresentato dai derivati dell'acido cinnamico e dell'acido benzoico. Questi, abbondantemente contenuti in molte piante edibili, comprendono l'acido caffeico, il p-cumarico, il sinapico e il ferulico. Quest'ultimo si distingue per la sua elevata bioattività e perché presente in discrete quantità in diversi sottoprodotti industriali utilizzati nell'alimentazione zootecnica, come i derivati dell'industria molitoria. Generalmente questi composti si trovano in forma coniugata e la loro eventuale presenza in forma libera biodisponibile è conseguenza di un processo d'idrolisi enzimatico o chimico. La forma in cui sono presenti ne influenza fortemente la biodisponibilità per le specie

utilizzatrici e, per chiarire tale aspetto, fondamentale per ipotizzare l'eventuale utilizzazione di fonti alimentari contenenti polifenoli, sono state effettuate ricerche che prevedevano il dosaggio nel plasma e nelle urine dopo assunzione di componenti a contenuto noto di composti polifenolici. Dall'esame della letteratura emergono dati interessanti. Cools et al. (2014), ad esempio, riportano che la somministrazione di mangimi ricchi in isoflavoni provoca un aumento della concentrazione degli stessi nel sangue e nel latte. In un'altra sperimentazione condotta da Gladine et al. (2007a), è stato osservato, in pecore alimentate con estratti di piante ricche in polifenoli, l'aumento della concentrazione di alcuni di essi nel plasma. Questi studi indicherebbero che una parte degli isoflavoni assunti con la dieta rimane protetta dalla degradazione ruminale, diventando disponibili nell'intestino, che costituisce il sito di assorbimento principale di tali sostanze.

In una review sugli effetti dell'utilizzazione di alimenti contenenti polifenoli sulla produzione e sulla qualità dei prodotti lattiero-caseari, O'Connell e Fox (2001) evidenziano come in molte sperimentazioni si sia rilevato un considerevole aumento di tali sostanze nel latte di bovini, ovini e caprini che li assumono con gli alimenti che li contengono, come ad esempio i trifogli o diverse specie di felce, dimostrando che il trasferimento dall'alimento assunto dai ruminanti al prodotto animale avviene, anche se in modo parziale.

I polifenoli si trovano in natura sotto diverse forme, con strutture chimiche semplici, come quelle degli acidi fenolici e dei flavonoidi, a quelle più polimerizzate e complesse dei tannini; la complessità molecolare sembra essere la principale responsabile della biodisponibilità delle molecole e, quindi, le molecole costituite da semplici gruppi fenolici sembrano essere più facilmente assorbite a livello intestinale. Più recentemente, Gladine et al. (2007b) hanno rilevato la presenza di epicatechine, polifenoli con struttura polimerica complessa, nel sangue di pecore che ricevevano estratti di piante ricchi di questi polifenoli per infusione ruminale diretta, dimostrando che i ruminanti sono in grado di metabolizzare anche queste molecole, rendendole composti biodisponibili. Comunque, l'influenza della complessità della molecola sulla capacità antiossidante dei polifenoli è ancora molto dibattuta dalla comunità scientifica.

4.1. Lo stress ossidativo negli animali da allevamento e la funzione antiossidante dei polifenoli

I radicali liberi sono specie chimiche estremamente reattive di diversa natura, dotate di elettroni spaiati nei loro orbitali che per questo motivo, tendono a riequilibrarsi eliminando la situazione di disaccoppiamento, reagendo con altre specie cedendo o acquistando elettroni. Nell'organismo degli animali superiori i radicali liberi hanno diversa natura, ma spesso sono indicati con gli acronimi inglesi ROS (Reactive Oxygen Species) e RNS (Reactive Nitrogen Species), in quanto dotati di atomi di ossigeno e di azoto altamente reattivi. La produzione di radicali liberi deriva principalmente dai processi catabolici di tutti gli esseri viventi (Ames et al., 1995), ma può anche essere conseguenza della biotrasformazione di composti estranei, tossine o farmaci, o può avvenire in seguito all'esposizione a fattori ambientali come alte concentrazioni di radiazioni UV (Ichihashi et al., 2003).

L'alta concentrazione prolungata nel tempo di ROS ed RNS negli organismi animali può procurare danni soprattutto a carico di 3 componenti della cellula: il grasso, le proteine e gli acidi nucleici. La perossidazione lipidica provoca danni alle membrane cellulari con conseguenti riflessi sulla funzionalità delle stesse. L'ossidazione delle proteine provoca danni agli amminoacidi modificando le funzioni delle proteine e dei diversi enzimi. Il danno al DNA può comportare mutazioni alterando la struttura delle basi azotate e provocando principalmente invecchiamento cellulare e, nei casi più estremi, tumori di diversa natura (Hoeschen, 1997).

Per contrastare l'attività dei radicali liberi gli organismi aerobici possiedono un'efficace sistema di difesa antiossidante, che in parte dipende dalla somministrazione degli stessi con la dieta alimentare (Bendich, 1993). Quando si verifica uno squilibrio tra sostanze ossidanti e antiossidanti, si instaura una condizione chiamata "stress ossidativo", causa di danni cellulari notevoli (Celi, 2011). Lo squilibrio fra sostanze ossidanti ed antiossidanti è influenzato da diversi fattori e nel caso delle specie zootecniche allevate le più frequenti sono gli errori alimentari, le condizioni generate dalle alte temperature o da qualsiasi altro stress ambientale, l'elevata produzione di latte, gli errori di gestione e le errate caratteristiche strutturali dei locali adibiti alla stabulazione (Aroussen 2002; Bernabucci et al., 2002; Castillo et al., 2006). Nelle specie zootecniche lo stress ossidativo sembra riflettersi negativamente sullo status

immunitario dei soggetti predisponendoli all'insorgenza di alcune malattie, come ad esempio la mastite, che peggiorano fortemente le produzioni quanti-qualitative e le condizioni di benessere degli animali.

Lo stress ossidativo si verifica soprattutto in corrispondenza di alcune fasi fisiologiche che, nelle bovine specializzate per la produzione di latte, coincidono con il periodo del parto e della fase iniziale della lattazione (Di Trana et al., 2006; Celi, 2011). Per le vacche da latte, il periodo del parto e l'inizio della lattazione rappresentano periodi di drastici cambiamenti fisiologici e di intensa attività metabolica sia a carico dei lipidi che delle proteine (Turk et al., 2004; Castillo 2006). Il periodo di transizione è sotto il controllo ormonale che coordina l'attività di tutti i tessuti e degli organi al fine di rispondere alle richieste metaboliche (Vernon, 2002). Questi processi metabolici intensi sono accompagnati da modificazioni del metabolismo energetico e da un aumento del consumo di ossigeno e, a cascata, un aumento della produzione dei ROS. In letteratura sono diverse le evidenze scientifiche attestanti che, durante il periodo di transizione, lo stress ossidativo contribuisce alla manifestazione di alcune malattie o disturbi metabolici (Bernabucci et al., 2002). I complessi sistemi di difesa messi a punto dagli organismi viventi nei confronti delle specie reattive all'ossigeno ed all'azoto che provocano danni cellulari si sono evoluti nei millenni e sono rappresentati dal sistema antiossidante costituito da numerosi agenti in grado di prevenire o annullare l'azione degli agenti ossidanti; questi agenti antiossidanti, chimicamente diversi tra loro, sono principalmente costituiti da enzimi, vitamine, oligoelementi e sostanze polifenoliche. Relativamente al meccanismo di azione degli antiossidanti, esso può essere riconducibile a 3 diverse modalità: preventiva, scavenger e/o chain breaker e di riparazione. Gli antiossidanti preventivi agiscono attraverso diversi meccanismi, come ad esempio la chelazione dei metalli o l'inattivazione dei perossidi, impedendo la generazione di ROS ed RNS ed evitando quindi che la catena di reazioni ossidative cominci. Gli scavenger (letteralmente, spazzino) ed i chain breaker (letteralmente, che spezzano la catena) formano una barriera difensiva riducendo la concentrazione di radicali liberi interagendo direttamente con essi e inattivandoli (scavenger) o bloccando la propagazione delle reazioni a catena (chain breaker). Quindi questo tipo di difesa blocca l'inizio e impedisce il propagarsi delle reazioni a catena. Il meccanismo di difesa di riparazione comprende enzimi che intervengono dopo il verificarsi del danno, tramite

la sostituzione del segmento molecolare danneggiato. L'azione antiossidante esercitata dai polifenoli è riconducibile ai primi due meccanismi di difesa, preventiva e scavenger – chain breaker (Likkesfeldt e Svendsen, 2006). I composti fenolici risultano dotati di un potente effetto antiossidante conferito dalla loro peculiare struttura in grado di legarsi ai radicali liberi dell'ossigeno trasformandoli in composti non radicalici privi di reattività. Tale azione avviene sia per la presenza di gruppi donatori di elettroni presenti sull'anello benzenico, che consentono di terminare le reazioni a catena innescate dai radicali liberi, sia per la presenza del gruppo carbossilico che con il doppio legame insaturo adiacente è in grado di fornire siti di attacco aggiuntivi per i radicali liberi dei ROS e dei RNS inattivandoli (Pannala et al., 1998), e una certa protezione dei lipidi contro la perossidazione (Kanaski et al., 2002).

Lo stress ossidativo deriva quindi da una maggiore produzione di sostanze ossidanti, oppure da una minore presenza di sostanze antiossidanti causato da diversi motivi come la minore assunzione di questi con l'alimentazione, la diminuzione della sintesi de novo, o l'aumento del turnover delle stesse. Da questo principio derivano le diverse modalità di misurazione utilizzate per valutare lo stress ossidativo o il danno da ossidazione, basati su misure dirette o indirette degli agenti ossidanti ed antiossidanti. La quantificazione degli antiossidanti può prendere in considerazione la capacità antiossidante complessiva o quantificare le singole sostanze antiossidanti. I sistemi di misura del primo tipo, molto utilizzati, determinano lo stato antiossidante totale (TAS), la capacità antiossidante Trolox equivalente (TEAC), la capacità antiossidante radical-trapping (TRAP) e l'azione riducente degli antiossidanti sullo ione ferrico (FRAP). Una caratteristica comune di queste unità di misura è che tentano di riassumere l'attività di tutti gli antiossidanti in un singolo valore.

Le misure del danno ossidativo invece possono prendere in considerazione le tre macromolecole bersaglio del deterioramento da radicali liberi, ovvero lipidi, proteine e DNA.

I lipidi, ed in particolare quelli polinsaturi, sono inclini all'ossidazione che può essere valutata in diversi modi; fra i metodi più utilizzati vi è la quantificazione della malonilaldeide (MDA), principale prodotto della perossidazione lipidica. Per quantificare la MDA viene utilizzato il saggio del TBARs (sostanze reattive all'acido tiobarbiturico) seguita da una determinazione spettrofotometrica (Esterbauer e Zollner,

1989). I saggi MDA sono stati criticati per la bassa specificità e perché tale composto chimico può formarsi in vivo in vari modi, tra cui l'ossidazione dei lipidi. Malgrado ciò però il metodo rimane uno dei più utilizzati per le misure del danno ossidativo per l'economicità e la relativa semplicità di esecuzione.

Vi è una grande quantità di lavori scientifici che hanno indagato sugli aspetti e sui riflessi dell'utilizzazione degli alimenti contenenti polifenoli sullo stato ossidativo degli animali e sulla capacità antiossidante dei prodotti ottenuti. Tali ricerche scientifiche partono dal presupposto che una delle strategie per favorire un bilancio positivo per le sostanze antiossidanti è rappresentata da una maggiore assunzione di esse con la dieta; conseguentemente gli alimenti che contengono polifenoli sono dei perfetti candidati per migliorare questo aspetto (Luciano et al., 2011). Per tale motivo risulta, quindi, auspicabile un sempre maggiore utilizzo di specie vegetali contenenti polifenoli nell'alimentazione animale, sia per contrastare lo stress ossidativo degli animali, sia per aumentare il contenuto di sostanze antiossidanti nei prodotti lattiero caseari e nella carne al fine di intercettare maggiormente la domanda dei moderni consumatori che richiedono sempre di più alimenti con migliori caratteristiche salutistiche. Peraltro, l'aumento di sostanze antiossidanti negli alimenti ne migliora la conservabilità e le caratteristiche organolettiche.

Di Trana et al. (2015) hanno condotto uno studio sugli effetti dei tannini condensati contenuti nel foraggio di sulla sullo status ossidativo e sul contenuto di polifenoli nel latte di capra, e riportano che l'alimentazione al pascolo sulla specie leguminosa, che contiene moderati livelli di tannini condensati, migliora lo stato ossidativo degli animali rilevato nel plasma, nonché la capacità antiossidante del latte, migliorando di conseguenza la qualità del prodotto. Capre alimentate al pascolo dove erano presenti arbusti ricchi di sostanze polifenoliche hanno prodotto, rispetto al gruppo controllo alimentato in stalla con foraggi e concentrati, un formaggio con un maggiore contenuto in sostanze antiossidanti e quindi più idoneo per la salute umana (Hilario et al., 2009).

L'aggiunta diretta alla carne di polifenoli estratti da piante è correlata con un ritardo dell'ossidazione del muscolo (Vasta e Luciano, 2011). L'utilizzazione da parte degli animali di alimenti ricchi di tannini, come gli estratti di Quebracho ha fatto ottenere gli stessi risultati determinando una più lenta ossidazione della mioglobina che

ha indotto una maggiore stabilità del colore in condizioni di aerobiosi (Luciano et al., 2009 e 2011). L'impiego di acido ellagico, acido fenolico dotato di notevole bioattività ottenuto dalle acque che residuano dalla molitura delle olive, nell'alimentazione degli ovini in accrescimento ha comportato una minore ossidazione lipidica ed una migliore stabilità del colore della carne (Hayes et al., 2009). Anche la carne di soggetti di specie caprina che ricevevano catechine ricavate dall'industria di lavorazione del the ha mostrato una migliore stabilità ossidativa della carne rispetto al gruppo controllo (Zongh et al., 2009).

Inoltre, Monino et al. (2008) hanno riscontrato elevati livelli di polifenoli nel muscolo di agnelli che assumevano il latte delle madri alimentate con l'estratto di rosmarino, il che dimostra ulteriormente come i polifenoli si possano trasferire dall'alimento al muscolo. Gladine et al. (2007b) hanno riscontrato una riduzione dell'ossidazione lipidica nel sangue in bovine alimentate con estratti di piante ricche di polifenoli, ipotizzando un diretto ruolo di tali composti nell'ossidazione degli acidi grassi. Un'analoga riduzione dell'ossidazione dei lipidi plasmatici ed un miglioramento dello stato antiossidante del plasma è stato ottenuto mediante la somministrazione di estratti vegetali alle pecore (Gladine et al., 2007a).

Infine, diversi studi dimostrano l'influenza dell'utilizzazione di alimenti ricchi di polifenoli sulle caratteristiche organolettiche ed in particolare delle proprietà olfattive dei prodotti. La carne di agnello possiede un aroma particolare che deriva sia dal contenuto in acidi grassi a catena ramificata sia dalla presenza di scatolo, composto originato dalla decarbossilazione del triptofano operata dai batteri ruminali (Young et al, 1997; Priolo et al, 2001). Quando presente nella carne ad elevata concentrazione, lo scatolo conferisce alla carne un odore fecale non gradito (Schreurs et al., 2008), riducendo così l'accettabilità da parte dei consumatori. Alcuni autori hanno tentato di ridurre l'accumulo di scatolo nella carne di agnello modificando le fermentazioni ruminali delle proteine tramite l'utilizzazione dei tannini condensati. Ad esempio, Schreurs et al. (2007a) riportano che l'integrazione dell'alimentazione con trifoglio bianco, foraggio ricco di polifenoli, riduce la presenza di scatolo nel muscolo; Priolo et al. (2009) in agnelli alimentati con quebracho ricco di tannini ha ottenuto risultati analoghi.

Come riportato, molti sono gli alimenti appartenenti alla categoria dei concentrati, dei foraggi e dei sottoprodotti utilizzati dalle specie zootecniche che contengono polifenoli. L'aumento del consumo dei sottoprodotti è auspicabile per diversi motivi: i bassi costi, la limitata o nulla competizione con l'alimentazione umana, il discreto valore nutritivo ed il contenuto in sostanze bioattive, utili per la salute animale ed umana. Inoltre, tali prodotti, spesso, rappresentano un problema per quanto concerne lo smaltimento, di conseguenza la loro utilizzazione nell'alimentazione zootecnica potrebbe rappresentare un ulteriore vantaggio. Molti sono i prodotti dotati di queste caratteristiche, come i derivati dell'industria molitoria dei cereali, dell'industria olearia e del vino, di quella conserviera del pomodoro e dei succhi di frutta, degli agrumi in particolare (Balasundram et al., 2006). Tutti i prodotti che residuano da queste lavorazioni, come le crusche, il pastazzo di agrumi, i vinaccioli, le buccette di pomodoro e le acque residue dei frantoi sono molto ricche di sostanze polifenoliche, spesso contenute in misura maggiore rispetto alla materia prima integrale perché concentrate. Inoltre, tali sottoprodotti sono facilmente reperibili nel meridione d'Italia dove sono coltivate le specie vegetali da cui derivano e dove, quindi, sono maggiormente presenti le industrie agroalimentari di trasformazione. Tuttavia, spesso, tali prodotti contengono le sostanze bioattive in forma poco disponibile e, per tali motivi, sono in corso di valutazione diversi trattamenti che ne potrebbero aumentare la biodisponibilità come il calore, l'attacco enzimatico effettuato con l'aggiunta diretta degli enzimi o indiretta tramite l'azione di funghi e/o batteri (Garrote et al., 2003; Sun et al., 2003; Correia et al., 2004).

Infine, a causa dell'influenza positiva dei polifenoli sulle caratteristiche nutraceutiche dei prodotti, è stata valutata da diversi autori la possibilità di aggiungerli direttamente nei prodotti agroalimentari, al fine di ottenere "prodotti funzionali". Sono stati brevettati, ad esempio, gli yoghurt arricchiti di estratti dal vino (Howard et al., 2000) o dai semi di soia (Crank e Kerr, 1999) ricchi di polifenoli. La produzione di "latte fortificato con polifenoli" ottenuto da bovine alimentate con semi di cotone, ricchi di gossipolo contenente genisteina, potente polifenolo, è stato proposto da Parodi (1999). Infine, l'aggiunta allo yoghurt di polifenoli come la catechina e l'aloina, estratti da diverse specie vegetali, è stato proposto per migliorare la sopravvivenza dei bifidobatteri durante la conservazione del prodotto (Akahoshi e Takahashi, 1996;

Pszczola, 1998), con conseguenti riflessi positivi sulle caratteristiche salutistiche del prodotto consumato dall'uomo.

5 - 1° contributo sperimentale

Effetto della crusca somministrata con la dieta sulle produzioni lattiero casearie e sullo stato metabolico-ossidativo di bovine da latte

5.1. Riassunto

La crusca, sottoprodotto dell'industria molitoria del frumento, è un ingrediente utilizzato per la formulazione di mangimi zootecnici. Per la sua composizione chimica, che evidenzia una discreta dotazione di carboidrati strutturali, risulta più conveniente l'impiego per le specie ruminanti che riescono ad utilizzarla con una maggiore efficienza beneficiando nel contempo del miglioramento delle condizioni ruminali. La crusca oltre che per l'equilibrata composizione chimica rappresenta, soprattutto nel sud Italia, un alimento facilmente reperibile localmente e disponibile a prezzi contenuti. L'uso della crusca potrebbe risultare conveniente anche perché contiene acido ferulico, composto polifenolico dotato di caratteristiche nutrizionali positive in grado di migliorare il bilancio antiossidante degli animali e garantire la produzione di alimenti destinati al consumo umano dotati di caratteristiche nutraceutiche. L'impiego di questo sottoprodotto nelle razioni degli animali, potrebbe risultare utile anche per motivi connessi alla sostenibilità delle produzioni zootecniche, sempre più accusate di utilizzare granaglie che potrebbero essere impiegate direttamente per l'alimentazione umana.

L'obiettivo della prova sperimentale è stato quello di valorizzare la crusca, inserendola come componente del piano alimentare di bovine da latte, per valutarne l'efficacia nel migliorare l'utilizzazione dei nutrienti e la protezione ossidativa negli animali; le potenzialità per produrre latte e formaggio di elevato valore nutrizionale e salutistico; la validità per il raggiungimento di una maggiore sostenibilità degli allevamenti dal punto di vista economico e sociale.

La sperimentazione ha coinvolto 36 bovine di razza Pezzata Rossa Italiana in lattazione suddivise in 3 gruppi che si diversificavano esclusivamente per il trattamento alimentare riferito al contenuto in crusca nel mangime, rispettivamente dello 0 % (C0), 10% (C10) e 20% (C20). Nel corso della prova, durata 100 giorni, sono state registrate con cadenza bisettimanale le ingestioni da parte degli animali ed effettuate le analisi degli alimenti utilizzati per la determinazione della composizione centesimale, dei

carboidrati strutturali e del contenuto dei principali acidi fenolici. La produzione individuale di latte è stata misurata con cadenza regolare ed i campioni utilizzati per l'analisi dei principali costituenti e dell'attitudine alla coagulazione. Sono state realizzate delle caseificazioni sperimentali con il latte di massa dei gruppi sperimentali e sul formaggio, oltre alla composizione centesimale sono stati determinati il colore, la resistenza alla compressione, il contenuto in polifenoli totali e gli indici di ossidazione lipidica (numero perossidi e TBARs) e di capacità antiossidante (FRAP). Sui campioni ematici prelevati nel corso della prova sono stati determinati, oltre al contenuto in polifenoli totali e liberi, i parametri indicatori del metabolismo energetico, proteico, dello stato nutrizionale, dello stato ossidativo (ROMs e BAP) e del sistema immunitario (IGg). I dati dei consumi alimentari di gruppo sono stati utilizzati per il conteggio delle ingestioni dei principali nutrienti e dei polifenoli, dei costi medi delle razioni ingerite, dell'indice di conversione in prodotti edibili per l'uomo e la produzione netta di alimenti consumabili dall'uomo (Wilkinson, 2001). I dati sono stati analizzati utilizzando la procedura GLM del SAS 9.2 (2010).

Le diete sono state formulate per essere isoenergetiche ed isoproteiche. Per la diversa composizione degli ingredienti il concentrato C20 è risultato quello maggiormente dotato di polifenoli, soprattutto di acido ferulico. Conseguentemente il gruppo C20 ha fatto registrare ingestioni di polifenoli maggiori rispetto al gruppo controllo, con valori intermedi per il gruppo C10. La dieta somministrata non ha influenzato la produzione di latte risultata simile fra i gruppi durante tutta la sperimentazione. Lieve differenze fra i gruppi sono emerse esclusivamente per la percentuale di proteina e caseina, risultata leggermente più elevata nel gruppo C20 rispetto agli altri, probabilmente per la migliore condizione ruminale di queste bovine. Il maggiore contenuto in caseina ha influenzato il tempo di coagulazione e la consistenza del coagulo misurati con il formagraph, risultati più elevati per il gruppo C20, mentre la resa casearia, non è stata influenzata dalla dieta.

Nel sangue degli animali di entrambi i gruppi che ricevevano la crusca, rispetto al gruppo controllo, sono stati dosati livelli di polifenoli più elevati. Il valore dei metaboliti reattivi all'ossigeno (ROMs) è risultato significativamente più basso nel gruppo alimentato con la quantità maggiore di crusca (C20), mentre il gruppo C10 ha mostrato valori intermedi. Anche l'indice di protezione antiossidante (IPA), dato dal

rapporto percentuale tra BAP e ROMs, è risultato migliore nel gruppo C20 rispetto al gruppo che non riceveva la crusca. Il miglioramento dello stato di stress ossidativo delle bovine ha avuto probabilmente ripercussioni anche sullo stato immunitario delle bovine risultato migliore nelle bovine C20. I parametri del metabolismo energetico e proteico non sono stati influenzati dalla dieta ed i valori riscontrati sono da ritenere in linea con quelli di animali con una soddisfacente condizione di salute.

I parametri chimico-fisici, del colore e della resistenza alla compressione del formaggio non sono stati influenzati dalla dieta somministrata, ad eccezione della luminosità della crosta, risultata più bassa, e dell'indice del rosso della pasta, risultato più elevato, nel gruppo C20. Il contenuto di polifenoli totali del formaggio del gruppo C20 è risultato tendenzialmente maggiore rispetto al gruppo controllo che non riceveva la crusca, con valori intermedi per il gruppo C10. Questo ha causato riflessi positivi sui formaggi ottenuti dalle bovine che ricevevano la dose maggiore di crusca, in quanto sono risultati con un numero di perossidi inferiore e con un contenuto di sostanze antiossidanti, misurato attraverso la determinazione dei FRAP, maggiore. I polifenoli somministrati agli animali con la dieta, quindi, sono stati trasferiti, nei formaggi e gli stessi hanno esercitato un ruolo positivo proteggendo gli acidi grassi insaturi dei formaggi dai danni dell'ossidazione. Il costo della razione ingerita dalle bovine del gruppo C20 è risultata significativamente minore rispetto al gruppo controllo C0, sia in termini di concentrato che di fieno. Valori intermedi sono stati registrati per il gruppo C10. Il minore costo di acquisto della crusca, rispetto agli altri ingredienti utilizzati per la formulazione dei concentrati ha permesso di raggiungere tali risultati, peraltro senza influenzare negativamente la produzione di latte. Gli indici dell'efficienza di conversione in prodotti edibili per l'uomo degli alimenti utilizzati durante la sperimentazione e la produzione netta di alimenti sono stati influenzati dalla dieta, in particolare il gruppo C20 ha evidenziato i migliori indici heFCE ed NFP, sia in termini di proteina grezza che in termini di energia lorda.

In conclusione l'alimentazione delle bovine con mangimi con crusca nella sperimentazione sembra aver permesso di raggiungere diversi vantaggi come il miglioramento dello stato ossidativo e dell'efficienza del sistema immunitario delle bovine; il miglioramento della qualità del latte, risultata leggermente superiore in termini di proteina e caseina; il miglioramento delle caratteristiche di conservabilità e

composizione nutraceutica del formaggio, dovuto alla presenza di composti antiossidanti quali i polifenoli; la diminuzione dei costi di alimentazioni, peraltro con produzioni di latte sovrapponibili con le bovine del gruppo controllo; il miglioramento degli indici di efficienza, heFCE ed NFP, di utilizzazione degli alimenti da parte degli animali.

5.2. Introduzione

La crusca, sottoprodotto che residua dalla molitura del frumento per l'ottenimento di farina, risulta allo stato attuale un ingrediente abbastanza utilizzato per l'alimentazione animale sia per la composizione di concentrati da parte dei mangimifici sia per la formulazione di semplici razioni direttamente in allevamento. L'utilizzazione della crusca, alimento discretamente dotato di carboidrati strutturali, risulta più conveniente soprattutto per le specie ruminanti sia perché risultano in grado di utilizzare con una maggiore efficienza, rispetto ai monogastrici, gli alimenti maggiormente dotati di fibra sia perché riescono a beneficiare del miglioramento delle condizioni dell'ecosistema ruminale (Arthington et al., 2002), che invece potrebbe risultare compromesso quando si utilizzano concentrati con elevata e rapida fermentescibilità.

La crusca di frumento duro rappresenta, soprattutto nella parte meridionale della nostra nazione, un'importante risorsa sotto il profilo mangimistico, oltre che per l'equilibrata composizione chimica, anche per altri motivi, il primo dei quali è sicuramente legato alla elevata disponibilità ed alla facilità di reperimento localmente, dove le superfici destinate alla coltivazione del frumento sono elevate e, conseguentemente, sono presenti molti molini che producono farina. Inoltre, il prezzo contenuto ne favorisce l'utilizzazione soprattutto nelle fasi congiunturali in cui gli altri alimenti raggiungono prezzi elevati. L'utilizzazione della crusca potrebbe risultare anche conveniente perché contiene elevate quantità di acido ferulico, composto polifenolico dotato di caratteristiche nutrizionali positive (Hatcher e Kruger, 1997; Lempereur et al., 1997; Baublis et al., 2002). L'uso di composti bioattivi, come i polifenoli, rappresenta una semplice naturale modalità per migliorare il bilancio antiossidante e quindi lo stato di salute degli animali e le loro performance, garantendo la sicurezza per la produzione di alimenti destinati al consumo umano. Molti sono gli studi riguardanti l'uso di piante e dei loro estratti al fine di migliorare lo stato

antiossidante degli animali (Celi and Raadsma, 2010; Di Trana et al., 2015; Luciano et al., 2011; Makkar et al., 2007), ridurre l'impatto ambientale dell'attività zootecnica e nel contempo fornire un prodotto sano al consumatore. Quest'ultimo aspetto risulta importante in quanto il consumatore moderno, informato del valore nutrizionale e salutistico dei prodotti, richiede sempre più alimenti con caratteristiche adeguate per preservare, se non addirittura migliorare, la salute umana.

L'utilizzazione odierna della crusca nelle razioni degli animali, così come quella di altri sottoprodotti, potrebbe risultare utile per altri motivi connessi alle accuse che sempre più si rivolgono ai sistemi di allevamento intensivi in quanto grandi utilizzatori di granaglie, come mais e soia, potenzialmente utilizzabili direttamente dall'uomo. L'utilizzazione dei concentrati da parte dei ruminanti viene svolta con una scarsa efficienza di utilizzazione dell'energia e delle proteine, addirittura alcuni ricercatori hanno calcolato che quasi il 90 % delle calorie prodotte dalle colture vegetali utilizzate negli allevamenti intensivi si perdono e non si ritrovano nei prodotti di origine animale (Cassidy et al., 2013). Quindi, se i ruminanti venissero alimentati con prodotti solo parzialmente o addirittura non edibili per l'uomo, quali sono la maggior parte dei sottoprodotti, con le loro produzioni potrebbero fornire un guadagno netto di alimenti ad elevato valore biologico disponibili per l'uomo. La crusca rientra in questa tipologia di alimenti in quanto non molto utilizzata direttamente dall'uomo nell'alimentazione. Peraltro, a causa dell'importante contenuto in fibra, l'utilizzazione da parte dell'uomo viene effettuata con una bassa efficienza di utilizzazione.

La presente attività di ricerca ha avuto quindi l'obiettivo specifico di valorizzare la crusca, inserendola come componente del piano alimentare di bovine da latte per valutarne:

- l'efficacia nel migliorare l'utilizzazione dei nutrienti e la protezione ossidativa negli animali,
- le potenzialità per produrre latte e formaggio che, per la loro composizione, risultino di elevato valore nutrizionale e salutistico per i consumatori,
- la validità per il raggiungimento di una maggiore sostenibilità degli allevamenti dal punto di vista economico e sociale.

5.3. Materiale e metodi

5.3.1. Bovine, diete e disegno sperimentale

La prova sperimentale è stata condotta nel periodo compreso fra il 20 gennaio e il 30 aprile del 2014, per un totale di 100 giorni, presso l'azienda zootecnica Bulfara sita nel territorio comunale di Alimena (PA), ad una altitudine di 650 m s.l.m., in un tipico ambiente dell'entroterra siciliano.

Per la sperimentazione sono state utilizzate 36 bovine di razza Pezzata Rossa Italiana suddivise in 3 gruppi, di 12 bovine ciascuno, omogenei per produzione di latte ($28,2 \pm 6,2$ kg/d), giorni di lattazione (92 ± 56 d) e ordine di parto ($2,9 \pm 1,6$ d).

I tre gruppi sperimentali si diversificavano esclusivamente per il trattamento alimentare riferito al contenuto in crusca nel mangime, di seguito specificato:

- mangime con lo 0 % di crusca (C0);
- mangime con il 10% di crusca, mediante somministrazione a ciascuna bovina di un quantitativo di 1,50 kg/d di crusca (C10);
- mangime con il 20% di crusca, mediante somministrazione a ciascuna bovina di un quantitativo di 3,08 kg/d di crusca (C20).

Le diete, somministrate sotto forma di unifeed, sono riportate in tabella 1 ed erano costituite da un fieno polifita e dai tre diversi concentrati. La composizione dei tre concentrati utilizzati durante la sperimentazione e formulati affinché risultassero isoproteici ed isoenergetici, è riportata in tabella 2.

Le bovine erano tutte allevate in maniera permanente in una stalla a stabulazione libera con zona di riposo a cuccette ed avevano accesso a tre diverse zone di alimentazione dove ricevevano l'unifeed 2 volte al giorno.

5.3.2. Rilevamenti, analisi e determinazioni

Nel corso della prova, le quantità di unifeed residue dei diversi gruppi sono state pesate con cadenza bisettimanale per il calcolo dei consumi alimentari di gruppo.

I campioni degli alimenti (fieno e concentrati) sono stati prelevati con cadenza settimanale nel corso della prova e macinati con una griglia di 1 mm per le successive analisi chimiche. Gli alimenti utilizzati (fieno, concentrati e crusca) sono stati analizzati per la determinazione di sostanza secca (SS), proteina grezza (PG), estratto etereo (EE)

e ceneri (AOAC, 2000), e carboidrati strutturali (NDF, ADF, ADL) (Van Soest et al., 1991). La percentuale in carboidrati non strutturali (CNS) è stato calcolato per differenza come segue: $CNS \% = 100 - (NDF \% + PG \% + EE \% + ceneri \%)$. Degli alimenti è stato stimato il valore energetico, espresso in Mcal di energia netta per la lattazione (ENL), utilizzando apposite equazioni del National Research Council (NRC, 2001) basate sulla digeribilità e sul tenore in ADF. La composizione chimica media degli alimenti utilizzati durante la sperimentazione è riportata nella tabella 3. Gli alimenti (tabella 4) sono stati analizzati anche per la determinazione del contenuto dei principali acidi fenolici costituenti i polifenoli, secondo il metodo proposto da Dinelli et al. (2009).

Le bovine per tutta la durata della prova sono state munte meccanicamente due volte al giorno, alle ore 5.00 ed alle ore 17.00, in una sala di mungitura a spina di pesce di 12 posti. I rilevamenti ed i campionamenti della produzione individuale di latte sono stati effettuati con cadenza regolare 6 volte durante la sperimentazione rispettivamente nei giorni 0, 14, 35, 56, 77 e 100 di prova. I campioni di latte individuale sono stati analizzati per la determinazione di grasso, proteina, lattosio, cellule somatiche (CCS) (Combifoss 6000, FC, Foss Italia), urea (CL-10 Plus, Eurochem, Italia), pH e acidità titolabile ($^{\circ}SH/50$ ml). Inoltre sono stati determinati azoto totale (NT), azoto non caseinico (NNC), azoto non proteico (NNP) per il calcolo di caseina e sieroproteine (ASPA, 1995) ed i parametri di coagulazione r (tempo di coagulazione, min), k_{20} (velocità di formazione del coagulo, min), a_{30} (consistenza del coagulo, mm) e a_{2r} (consistenza del coagulo definito ad un tempo doppio rispetto a r , mm) (Formagraph, Foss, Padova, Italia).

In coincidenza delle date in cui sono stati effettuati i controlli individuali è stato raccolto il latte di massa dei 3 gruppi sperimentali per la trasformazione casearia. Le microcaseificazioni effettuate in laboratorio prevedevano l'utilizzazione di 3,5 kg di latte per ciascun gruppo; lo stesso veniva riscaldato in un becker in pirex alla temperatura di $37^{\circ}C$. Successivamente sono stati aggiunti 18 ml di una soluzione (1,6:100) contenente caglio liquido (1:15,000; CHR. Hansen, Parma, Italy), e, in attesa della coagulazione, i becker sono stati mantenuti in stufa alla temperatura di $37^{\circ}C$ per 1 ora. La cagliata quindi è stata sottoposta a rottura fino ad ottenere dei granuli simili a chicchi di riso e, per favorire il processo della sineresi, è stato effettuato un

riscaldamento in bagnomaria alla temperatura di 80° C per 4'. Successivamente è stato effettuato lo spurgo della cagliata, ponendo la massa caseosa dentro fascelle di plastica. Successivamente la cagliata è stata sottoposta a riscaldamento in bagnomaria alla temperatura di 60° C per 1 ora e quindi posta su una griglia metallica per l'asciugatura. Dopo 24 ore il formaggio è stato conservato in una cella a temperatura ed umidità controllata (16° C e 80 % U.R.). Ogni campione è stato pesato dopo 24 ore, 15 e 30 giorni per il calcolo delle rese. Il formaggio a 30 giorni è stato sottoposto ad analisi, utilizzando la metodica FIL-IDF per la determinazione della SS (4A:1982; IDF,1982) della proteina e dell'azoto solubile (25:1964; IDF, 1964a), del grasso (5B:1986; IDF, 1986) e delle ceneri (27:1964; IDF, 1964b). La determinazione del colore della crosta esterna e della pasta del formaggio è stata eseguita in doppio mediante colorimetro Minolta (mod. CR300 - Minolta, Osaka, Japan) con il sistema CIEL*a*b*, utilizzando l'illuminante C, sono stati determinati la luminosità (L), l'indice del rosso (a) e l'indice del giallo (b). La resistenza alla compressione del formaggio, misurando lo sforzo di compressione determinato al punto di deformazione massima di un cilindro di campione del diametro di 2 cm, è stato determinato tramite Instron (mod. 5564, Instron, Trezzano sul Naviglio, Milano, Italy). Il pH è stato misurato tramite pHmetro (HI 9025; Hanna Instruments Inc., Ann Arbor, MI).

I campioni di formaggio sono stati sottoposti alla determinazione del contenuto in polifenoli totali secondo il metodo riportato da Rashidinejad et al. (2013), mediante il reagente di Folin–Ciocalteu (ISO-14502-1, 2005).

Sui formaggi sono stati determinati anche:

- numero di perossidi, indice dell'ossidazione lipidica primaria (74A:1991; IDF 1991);
- sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARs, indice dell'ossidazione lipidica secondaria) utilizzando come marker la malondialdeide (MDA) e seguendo il metodo proposto da Tarladgis et al. (1960) modificato da Mele et al. (2011)
- azione riducente degli antiossidanti sullo ione ferrico (FRAP, Ferric reducing antioxidant power) utilizzando il metodo proposto da Benzie e Strain (1996).

Per valutare lo stato metabolico-nutrizionale e di stress ossidativo delle bovine, in coincidenza dei controlli individuali effettuati sulle bovine ad inizio prova, al giorno 14 ed a fine prova, sono stati effettuati dei prelievi ematici usando provette vacutainer

contenenti litio eparina per ottenere il plasma e senza anticoagulante con gel di separazione per ottenere il siero (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ). Entrambe le provette sono state, quindi, conservate a bassa temperatura; dopo poche ore, necessarie per il trasporto in laboratorio, il plasma è stato centrifugato a 3000 rpm per 10 min a 4°C, ed il siero a 3000 rpm per 7 min in centrifuga non refrigerata. Fino al momento dell'esecuzione delle analisi, tutte le aliquote preparate sono state conservate alla temperatura di -80°C. Le analisi sono state effettuate presso il laboratorio del Dipartimento di Scienze delle Produzioni Animali dell'Università degli Studi della Basilicata di Potenza, sotto la guida della Prof. Adriana Di Trana.

Lo stato metabolico-nutrizionale delle bovine è stato valutato attraverso il dosaggio nel plasma e nel siero ematico di parametri indicatori del metabolismo energetico, proteico, dello stato nutrizionale, dello stato ossidativo e del sistema immunitario.

Un analizzatore automatico (TARGA modello 2000, Technology Advanced Random Generation Analyzer, Biotechnica Instruments, Rome, Italy) è stato utilizzato per dosare colesterolo, proteine totale ed albumina (Mercury, Riardo, Italy). Le globuline sono state calcolate per differenza fra le proteine totali e le albumine. Gli acidi grassi non esterificati (NEFA) ed il betaidrossibutirrato (B-OHB) sono stati quantificati rispettivamente utilizzando l'FA 115 e kit commerciali Ranbut (Randox Laboratories, Crumlin, UK). Insulina (Mercodia 10-1202-01, Uppsala, Sweden), l'insulin like growth factor-1 (IGF-1; DRG Diagnostics, Marburg, Germany), e gli ormoni tiroidei free triiodothyronine (fT3; DiaMetra Srl, Milan, Italy) e free thyroxine (fT4; DiaMetra Srl), le gammaglobuline (IgG; Bethyl diagnostics) sono stati determinati utilizzando la tecnica ELISA e kit commerciali. I metaboliti reattivi all'ossigeno (ROMs, Reactive Oxygen Metabolites) e la barriera antiossidante totale (BAP-test, Biological Antioxidant Potential), sono stati determinati utilizzando test Diacron. Utilizzando la formula $\log \text{BAP} / \text{ROMs} * 100$ è stato calcolato l'indice di protezione antiossidante (IPA) (Ranade et al., 2014).

Sul plasma sono stati determinati inoltre i polifenoli totali, con il metodo di Folin-Ciocalteu (ISO, 2005), dopo estrazione secondo il metodo descritto da Serafini et al. (1998); i polifenoli liberi con il metodo di Folin-Ciocalteu e dopo precipitazione delle

proteine secondo il metodo descritto da Santiago-Arteche et al. (2012) ed i polifenoli coniugati per differenza tra i due precedenti.

I dati risultanti dal calcolo dei consumi alimentari di gruppo, determinati con cadenza bisettimanale, sono stati utilizzati per il conteggio dei seguenti parametri:

- ingestioni medie giornaliere delle singole bovine di PG, NDF, ADF, ADL, CNS, ENL e polifenoli;
- costi medi delle razioni ingerite dalle bovine durante la sperimentazione, utilizzando i prezzi medi di mercato del fieno e delle materie prime utilizzate per la formulazione dei diversi concentrati;
- indice dell'efficienza di conversione, in termini di proteina grezza (PG) e di energia lorda (EL), in prodotti edibili per l'uomo degli alimenti utilizzati durante la sperimentazione (heFCE, – human-edible feed conversion efficiency), espresso tramite il rapporto fra gli output edibili per l'uomo, rappresentati dal latte prodotto dalle bovine, e gli input edibili per l'uomo (alimenti consumati dagli animali, ma potenzialmente utilizzabili dall'uomo) (Wilkinson, 2011). Per il calcolo dell'energia del latte è stata utilizzata la formula proposta dal National Research Council (NRC, 2001) che considera il contenuto di grasso, proteine e lattosio. Per il calcolo degli input edibili per l'uomo sono stati utilizzati i coefficienti medi proposti da Ertl et al. (2015a), considerando il potenziale di recupero di nutrienti (pg ed el) per l'uomo dagli alimenti utilizzati nella sperimentazione, considerando le odierne tecnologie disponibili;
- la produzione netta di alimenti (NFP, net food production) è stata calcolata in termini di EL e PG, sottraendo gli input edibili per l'uomo agli output edibili per l'uomo.

5.3.3. Analisi statistica

L'analisi statistica dei dati è stata effettuata con il software SAS 9.1.2 (2004), utilizzando diversi modelli, nel seguente modo:

- i dati della produzione di latte individuale utilizzando la procedura MIXED con i fattori fissi dieta (3 livelli: C0, C10 e C20), fase sperimentale (2 periodi, il primo comprende i controlli effettuati dal 20 gennaio, inizio della prova, fino al 17 marzo; il secondo i controlli dal 18 marzo fino alla fine della prova, 30 aprile) e la loro interazione. I dati della produzione di latte del controllo iniziale sono stati usati come

covariate solo quando significative, mentre la bovina è stata considerata come fattore casuale e utilizzato come termine di errore. I valori delle CCS sono state riportate in forma logaritmica (\log_{10}).

- i dati relativi alle analisi ematiche individuali utilizzando la procedura MIXED con i fattori fissi dieta, (3 livelli: C0, C10 e C20), giorno del controllo (2 livelli, giorno 14 e 100) e la loro interazione. I dati delle analisi ematiche del campionamento iniziale effettuato il giorno di inizio prova sono stati usati come covariate solo quando significative, mentre la bovina è stata considerata come fattore casuale e utilizzato come termine di errore.

- i dati relativi alle analisi del formaggio utilizzando la procedura GLM con i fattori fissi dieta, (3 livelli: C0, C10 e C20), fase sperimentale (2 periodi, il primo comprende le prime due caseificazioni effettuate fino al 17 marzo; il secondo le tre caseificazioni effettuate fino alla fine della prova, 29 aprile), periodo di stagionatura (2 livelli, 15 e 30 giorni) e l'interazione dieta per fase sperimentale.

- i dati relativi alle ingestioni di gruppo utilizzando la procedura GLM con i fattori fissi dieta, (3 livelli: C0, C10 e C20), fase sperimentale (2 periodi, primo dal 20-1 al 27-3, secondo dal 28-3 al 30-4) e la loro interazione.

Le differenze fra le medie sono state testate con il test “t” di Student, considerando soglie di significatività dello 0,01 e 0,05. Le differenze fra le medie delle interazioni sono state valutate considerando la soglia dello 0,05.

5.4. Risultati e discussione

Nella tabella 1 è indicata la formulazione delle diete giornaliere somministrate alle bovine nel corso della sperimentazione, formulate per essere isoenergetiche ed isoproteiche. Per soddisfare questa esigenza, quindi, alle bovine che ricevevano la crusca è stata somministrata una quantità giornaliera leggermente più elevata di concentrato e, conseguentemente, più bassa di fieno.

La tabella 2 riporta la composizione dei tre mangimi utilizzati durante la prova sperimentale. Il concentrato C0 utilizzato come controllo, non contiene crusca mentre negli altri due vi sono rispettivamente il 10 % (C10) e 20 % (C20) di crusca. Il concentrato C0 del controllo in sostituzione della crusca è stata inclusa una quantità maggiore di orzo e favino e grasso saponificato. Dalla formulazione dei concentrati deriva una leggera differenza nella composizione chimica dei mangimi utilizzati (tabella 3). Le differenze maggiori riguardano il contenuto in NDF, risultato come era prevedibile maggiore per i concentrati contenenti la crusca per la maggiore dotazione di carboidrati strutturali di questo sottoprodotto rispetto alle altre materie prime utilizzate per comporre i concentrati. Una lieve differenza è stata rilevata anche per il contenuto in estratto etereo anche in questo caso risultato maggiore nei concentrati con crusca. La tabella 3 riporta anche la composizione media della crusca, espressa in % della SS, utilizzata durante la sperimentazione come ingrediente dei concentrati e dalla quale si evince il notevole contenuto di carboidrati strutturali, con valori di NDF pari a 36,88 %, e di grasso, con EE pari al 5,14 %. Comunque, malgrado tali differenze, i concentrati sono risultati simili per valore energetico e proteico.

La tabella 4 riporta il contenuto in acidi fenolici dei concentrati utilizzati nella prova. Tali composti polifenolici sono contenuti in maniera significativa in molti cereali, compreso il mais che è stato utilizzato in elevate percentuali nei tre concentrati utilizzati. Tuttavia a causa del maggior contenuto di polifenoli della crusca rispetto agli altri ingredienti utilizzati, il concentrato C20 è risultato quello maggiormente dotato di tali sostanze bioattive. Fra questi il composto più rappresentato è risultato l'acido ferulico, seguito a distanza dall'acido sinapico e p-cumarico, e con livelli via via più bassi dagli acidi siringico, vanillico e 4-idrossibenzoico. Come era prevedibile, per quanto riguarda il contenuto in polifenoli, valori intermedi sono emersi per il gruppo C10.

La tabella 5 riporta le ingestioni degli alimenti (kg/d di SS), dei principi alimentari (kg/d di SS) e dei polifenoli (g/d) realizzate dalle bovine durante la sperimentazione. I gruppi che ricevevano la crusca, anche a causa della formulazione delle diete unifeed, hanno consumato meno fieno ed una quantità leggermente maggiore di concentrato. Il consumo totale di alimenti è stato maggiore per i gruppi C0 e C10 rispetto al gruppo C20. Le ingestioni realizzate dai gruppi C0 e C10 sono state superiori in termini di proteina grezza e carboidrati non strutturali, rispetto al gruppo C20. La fibra consumata dai tre gruppi di animali è risultata differenziata in rapporto alle 3 componenti ingerite, NDF, ADF ed ADL, comunque le differenze registrate fra i gruppi sperimentali sono risultate lievi in quanto le diete sono state definite compensando la maggiore quantità di fibra ingerita dalle bovine alimentate con la crusca con un minor apporto di fieno. Le ingestioni in termini energetici sono risultate lievemente diverse fra i gruppi con valori medi di 140,5 MJ per capo al giorno. Come conseguenza del diverso contenuto in polifenoli degli alimenti somministrati le ingestioni medie di tali composti realizzate dalle bovine durante la sperimentazioni sono state differenti; il gruppo C20 ha fatto registrare ingestioni di polifenoli maggiori rispetto al gruppo controllo, con valori intermedi per il gruppo C10.

La produzione, la composizione chimico-fisica ed i parametri reologici del latte individuale delle bovine rilevate nel corso della prova sono riportate nella tabella 6. La dieta somministrata non ha influenzato la produzione di latte risultata simile fra i gruppi durante tutta la sperimentazione. Lieve differenze fra i gruppi sono emerse esclusivamente per la percentuale di proteina e caseina, risultata leggermente più elevata nel gruppo C20 rispetto agli altri. Tale differenza potrebbe essere imputabile alla migliore condizione ruminale delle bovine alimentate con una dose maggiore di crusca, così come riportato da Ertl et al. (2015), che ha portato ad una migliore utilizzazione della proteina somministrata con la razione e/o ad una maggiore produzione di proteina microbica, successivamente digerita nel tratto post ruminale e quindi maggiormente disponibile per la sintesi mammaria di proteine. Il maggiore contenuto in caseina ha influenzato il tempo di coagulazione e la consistenza del coagulo misurati con il formagraph, risultati più elevati per il gruppo C20. La resa casearia, espressa in kg di formaggio ottenuti da 100 kg di latte, determinata a 15 g (7,6, 7,7 e 7,5 %,

rispettivamente per i gruppi C0, C10 e C20) e 30 g (4,2, 4,3 e 4,1 %, rispettivamente per i gruppi C0, C10 e C20) di stagionatura non è stata influenzata dalla dieta.

Il periodo ha influenzato quasi tutti i parametri considerati. La produzione, come era prevedibile, è diminuita a causa dell'avanzare della fase di lattazione. Le bovine utilizzate all'inizio della prova si trovavano a 92 ± 56 giorni dal parto quindi, in considerazione della durata della prova pari a 100 giorni, alla fine della sperimentazione diverse bovine si trovavano verso la fine della lattazione. Di conseguenza l'effetto concentrazione del latte ha influenzato i principali componenti del latte come le sostanze azotate e le cellule somatiche. L'effetto dell'interazione fra il periodo e la dieta si è manifestato solo per la proteina del latte risultata in entrambe le fasi tendenzialmente più elevata nel gruppo C20 rispetto agli altri, anche se tale differenza è stata più marcata fra il valore C20 del 2° periodo vs le bovine C0 e C10 del 1° periodo.

Nella tabella 7 sono riportati i contenuti di polifenoli riscontrati nel sangue ed i valori dei parametri della condizione di stress ossidativo, del metabolismo energetico, proteico e dell'efficienza del sistema immunitario delle bovine determinati a 14 giorni dall'inizio ed a fine prova. Nel sangue degli animali di entrambi i gruppi che ricevevano la crusca, rispetto al gruppo controllo, sono stati dosati livelli di polifenoli sia liberi, dotati di maggiore biodisponibilità, sia legati più elevati. Quindi, il passaggio degli acidi fenolici dall'alimento agli animali sembra essere avvenuto anche se in modo parziale. O'Connell e Fox (2001) in una review che ha considerato la materia segnalano che in diversi lavori scientifici è stato riscontrato un considerevole aumento di polifenoli nei prodotti animali che li assumono con gli alimenti, dimostrando che il trasferimento dall'alimento assunto dai ruminanti agli animali si verifica con frequenza.

Il valore dei metaboliti reattivi all'ossigeno (ROMs) è risultato significativamente più basso nel gruppo alimentato con la quantità maggiore di crusca (C20), mentre il gruppo C10 ha mostrato valori intermedi. Il parametro del valore del potenziale antiossidante (BAP) non è stato influenzato dalle diete utilizzate, mentre l'indice di protezione antiossidante (IPA), dato dal rapporto percentuale tra BAP e ROMs, è risultato migliore nel gruppo C20 rispetto al gruppo che non riceveva la crusca. I valori di ROMs e IPA sono stati influenzati positivamente dall'alimentazione con la crusca, come è evidente dall'interazione dieta*controllo mostrata nella tabella, soprattutto alla

fine della prova, quando l'effetto perdurante della somministrazione dell'alimento ha potuto consolidarsi e compiere maggiormente i suoi effetti.

I ROMs, considerati indicatori della produzione di radicali liberi, si originano da reazioni metaboliche a livello cellulare e, se prodotti in eccesso o più rapidamente rispetto alla capacità di neutralizzarli attraverso meccanismi antiossidanti, provocano uno stato di stress ossidativo che contribuisce, come è noto, all'insorgenza di disordini metabolici interferendo, per questo, sulle funzioni fisiologiche e sulla produttività nelle specie animali allevate (Miller et al., 1993; Celi, 2011). Pertanto, l'alimentazione delle bovine con la crusca sembra aver contribuito alla diminuzione dei radicali liberi. È dimostrato che l'alimentazione svolge un ruolo determinante sullo stato ossidativo degli animali allevati (Aurousseau, 2002), quindi è probabile che l'introduzione della crusca, sottoprodotto dotato di polifenoli e con una adeguata composizione fibrosa, nella razione alimentare delle bovine possa aver contribuito alla diminuzione dei ROS.

L'azione antiossidante esercitata dai polifenoli avviene per la loro particolare struttura (Likkesfeldt e Svendsen, 2006) in grado di legarsi ai radicali liberi dell'ossigeno trasformandoli in composti privi di reattività. Tale azione si verifica sia per la presenza di gruppi donatori di elettroni presenti sull'anello benzenico degli acidi fenolici, che consentono di terminare le reazioni a catena innescate dai radicali liberi, sia per la presenza del gruppo carbossilico che con il doppio legame insaturo è in grado di fornire siti di attacco aggiuntivi per i radicali liberi dei ROS inattivandoli (Pannala et al., 1998).

Non è escluso che il miglioramento delle condizioni ruminali, dovuto all'alimentazione con la crusca maggiormente dotata di fibra rispetto alle altre materie prime utilizzate nei concentrati, abbia contribuito anch'esso alla produzione di un numero inferiore di radicali liberi da parte degli animali (Aurousseau, 2002).

Il miglioramento dello stato di stress ossidativo delle bovine ha avuto probabilmente ripercussioni anche sullo stato immunitario delle bovine risultato migliore nelle bovine C20 rispetto a quelle C0, con valori intermedi per il gruppo C10, come testimoniato dai livelli di immunoglobuline (IgG) riscontrati durante la sperimentazione.

I parametri del metabolismo energetico e proteico non sono stati influenzati dalla dieta ed i valori riscontrati sono da ritenere in linea con quelli di animali con una soddisfacente condizione di salute.

Il momento del campionamento del sangue utilizzato per le analisi, che ricordiamo è avvenuto a 14 giorni dall'inizio ed a fine prova, ha influenzato molti dei parametri considerati. I ROMs al contrario di quanto ci si aspettasse sono risultati più elevati a fine prova rispetto alla fase iniziale, in contrasto con quanto trovato da altri autori (Bernabucci et al., 2002; Castillo et al., 2006) che evidenziano una maggiore produzione di radicali liberi da parte degli animali nella prima fase di lattazione. Probabilmente le bovine utilizzate nella sperimentazione, che all'inizio della prova si trovavano mediamente a circa 100 giorni dal parto, non hanno subito l'effetto stressante che si verifica soprattutto nella fase iniziale della lattazione post-partum. Come conseguenza dell'andamento dei ROMs, anche l'indice di protezione antiossidante ha mostrato la stessa tendenza. Le bovine a fine prova hanno mostrato dei livelli maggiori di immunoglobuline, indice di una maggiore efficienza del sistema immunitario nella fase intermedia-finale della lattazione. Il livello degli acidi grassi non esterificati (NEFA) è risultato più elevato nel primo controllo, quando ancora alcune delle bovine utilizzate nella prova, che si trovavano nella fase iniziale della lattazione, probabilmente facevano ricorso alle riserve lipidiche per sostenere le elevate produzioni di latte. La concentrazione di insulina, ormone correlato negativamente con la produzione latte, è risultata maggiore nel controllo di fine prova quando per l'avanzare della lattazione le bovine producevano meno. I parametri del metabolismo proteico (proteine totali, albumine e globuline) non sono stati influenzati dal giorno di campionamento.

I parametri chimico-fisici, del colore e della resistenza alla compressione del formaggio determinati sui prodotti ottenuti con le microcaseificazioni del latte di massa, mostrati nelle tabelle 8 e 9 non sono stati influenzati dalla dieta somministrata, ad eccezione della luminosità della crosta, risultata più bassa, e dell'indice del rosso della pasta, risultato più elevato, nel gruppo C20. L'influenza dei polifenoli somministrati agli animali con la dieta sul colore dei prodotti lattiero caseari è stato valutato da O'Connell e Fox (2001) in una review; dalla rassegna bibliografica è emersa la notevole influenza degli acidi fenolici su tale parametro dei formaggi a causa principalmente

dell'influenza esercitata dagli stessi su alcuni processi enzimatici che avvengono durante la maturazione dei formaggi e per le sostanze pigmentanti che contengono.

Il periodo e la stagionatura hanno influenzato il contenuto di azoto solubile e di conseguenza anche il rapporto NS/NT, probabilmente sia per il maggior contenuto di proteine del latte riscontrato nel secondo periodo di prova ed anche a causa della maggiore solubilizzazione delle stesse che aumenta durante la stagionatura. Il periodo ha influenzato le caratteristiche del colore dei formaggi, probabilmente a causa delle differenze riscontrate sui diversi parametri chimico-fisici del latte. Anche la stagionatura ha influenzato il colore dei formaggi che, all'aumentare dei giorni, sono risultati con un minor grado di luminosità e con un più basso indice del giallo.

La tabella 10 riporta il contenuto in polifenoli, gli indici di ossidazione lipidica primaria (n. perossidi), secondaria (TBARs) ed il contenuto di sostanze antiossidanti (FRAP) determinato nei formaggi. Il contenuto di polifenoli totali del gruppo C20 è risultato tendenzialmente maggiore rispetto al gruppo controllo che non riceveva la crusca, con valori intermedi per il gruppo C10. Questo ha causato riflessi positivi sui formaggi ottenuti dalle bovine che ricevevano la dose maggiore di crusca, in quanto sono risultati con un numero di perossidi inferiore e con un contenuto di sostanze antiossidanti, misurato attraverso la determinazione dei FRAP, maggiore. Gli acidi grassi dei lipidi dei formaggi, ed in particolare quelli polinsaturi, sono inclini all'ossidazione. Peraltro gli acidi grassi polinsaturi, come è noto, sono ritenuti più idonei per la salute umana rispetto ai saturi, quindi preservarne la struttura contribuisce oltre che al miglioramento della conservabilità anche ad incrementare le caratteristiche nutrizionali dei prodotti alimentari (O'Connell e Fox, 2001). Il numero di perossidi ed il saggio dei TBARs (sostanze reattive all'acido tiobarbiturico) sono dei metodi utilizzati per la valutazione del danno ossidativo. La quantificazione degli antiossidanti valutando l'azione riducente degli stessi sullo ione ferrico (FRAP - Ferric reducing antioxidant power) fornisce un dato molto utilizzato in letteratura per valutare questi aspetti. I polifenoli somministrati con la dieta, quindi, sono stati trasferiti, anche se solo parzialmente, nei formaggi e gli stessi hanno esercitato un ruolo positivo proteggendo gli acidi grassi insaturi dei formaggi dai danni dell'ossidazione. Tali risultati sono in linea con quanto riscontrato da Cuchillo et al. (2010) in formaggi di capra ottenuti da animali che ricevevano livelli più elevati di polifenoli con la razione alimentare.

La tabella 11 mostra i valori del costo della razione ingerita dagli animali calcolata considerando il prezzo di mercato del fieno e dei diversi ingredienti utilizzati per la formulazione dei concentrati. Il costo della razione ingerita dalle bovine del gruppo C20 è risultata significativamente minore rispetto al gruppo controllo C0, sia in termini di concentrato che di fieno. Valori intermedi sono stati registrati per il gruppo C10. Tale andamento si è verificato sia durante il primo che durante il secondo periodo. Il minore costo di acquisto della crusca, rispetto agli altri ingredienti utilizzati per la formulazione dei concentrati (soprattutto orzo, favino e grassi saponificabili), ha permesso di raggiungere tali risultati, peraltro senza influenzare negativamente la produzione di latte durante tutta la durata della prova.

Gli indici dell'efficienza di conversione, in termini di proteina grezza (PG) e di energia lorda (EL), in prodotti edibili per l'uomo degli alimenti utilizzati durante la sperimentazione (heFCE), e la produzione netta di alimenti (NFP) sono riportati nella tabella 11. La dieta ha influenzato tutti gli indici considerati, in particolare il gruppo C20 ha evidenziato i migliori indici heFCE ed NFP, sia in termini di proteina grezza che in termini di energia lorda. Valori intermedi sono stati raggiunti con il gruppo C10. Il miglioramento degli indici sopra menzionati è in linea con quanto ottenuto da altri autori che hanno utilizzato per l'alimentazione di vacche da latte diete con diversi livelli di sottoprodotti (Dann et al, 2014; Ertl et al., 2016; Voelker et al, 2003).

L'utilizzazione della crusca potrebbe quindi contribuire a migliorare anche l'aspetto della sostenibilità etica delle produzioni animali, queste ultime sempre più criticate in quanto ottenute in allevamenti intensivi e con la massiccia utilizzazione di concentrati che includono materie prime direttamente utilizzabili nell'alimentazione umana, con una bassissima efficienza, soprattutto nei ruminanti.

Alimentare le vacche da latte con alimenti più ricchi di fibra come la crusca, utilizzabile solo parzialmente e con bassi coefficienti di digeribilità da parte dell'uomo, sfruttando la loro capacità di convertire gli alimenti fibrosi in un prodotto di elevato valore nutrizionale e biologico, aiuta quindi a migliorare gli indici heFCE ed NFP considerati. In tale ambito la crusca, così come gli altri sottoprodotti delle industrie agroalimentari, potrebbe essere strategicamente utile per diminuire la dipendenza degli allevamenti intensivi da cereali e semi oleosi, che diventeranno sempre più importanti nella nutrizione umana del futuro.

5.5. Conclusioni

In definitiva, dai dati emersi in questa sperimentazione, l'alimentazione delle bovine con mangimi che includono la crusca sembra aver permesso di raggiungere diversi vantaggi, che possiamo di seguito sintetizzare:

- livelli produttivi di latte sovrapponibili con le bovine del gruppo controllo;
- qualità del latte leggermente superiore, per il gruppo con la quantità maggiore di crusca, in termini di proteina, caseina e caratteristiche reologiche della cagliata;
- miglioramento dello stato ossidativo e dell'efficienza del sistema immunitario delle bovine;
- miglioramento delle caratteristiche di conservabilità e composizione nutraceutica del formaggio, dovuto alla presenza di composti antiossidanti quali i polifenoli;
- diminuzione dei costi di alimentazioni delle bovine;
- miglioramento degli indici di efficienza, heFCE ed NFP, di utilizzazione degli alimenti da parte degli animali.

Per tale motivo risulta auspicabile un maggiore utilizzo di sottoprodotti nell'alimentazione animale, in particolare della crusca che per la sua adeguata composizione e per il contenuto in polifenoli, risulta in grado di contrastare lo stress ossidativo degli animali aumentando il contenuto di sostanze antiossidanti nei prodotti lattiero caseari. Questo, unito alla migliore presentabilità del prodotto sul mercato dal punto di vista etico, potrebbe aiutare a intercettare maggiormente la domanda dei moderni consumatori che richiedono sempre di più alimenti con migliori caratteristiche salutistiche e dotati di maggiore sostenibilità.

Tabella 1. Formulazione (kg/capo al giorno) della dieta delle bovine

	C0	C10	C20
Acqua	12	12	12
Fieno polifita	11	10,5	10
Mangime	14,4	15,00	15,40
Totale	37,4	37,5	37,4

Tabella 2. Composizione (%) dei concentrati somministrati durante la sperimentazione

	C0	C10	C20
Crusca	0,0	10,0	20,0
Mais	49,5	49,0	50,0
Orzo	15,5	13,0	8,0
Soia f.e.	14,5	14,5	14,0
Favino	13,60	7,16	2,36
Grasso saponificato	2,5	2,3	1,9
Integratore minerale (1)	3,90	3,54	3,24
Integratore vitaminico	0,50	0,50	0,50

(1) Carbonato di calcio, bicarbonato di sodio, cloruro di sodio, fosfato bicalcico, ossido di magnesio e zolfo

Tabella 3. Composizione chimica media dei concentrati (% SS) e valore energetico (Mcal/kg Ss), del fieno e della crusca utilizzati durante la sperimentazione.

	C0	C10	C20	Fieno	Crusca
SS	88,75	88,51	88,51	81,99	86,99
Ceneri	6,87	7,04	6,67	10,46	4,91
Estratto etereo	2,84	3,14	3,48	1,58	5,14
Proteina grezza	18,63	18,31	18,07	8,68	16,78
NDF	11,48	13,55	15,72	64,02	36,88
ADF	6,26	6,74	6,93	44,74	12,71
ADL	0,69	1,01	1,27	7,19	3,47
CNS ¹	59,52	58,17	55,3	15,26	36,28
ENL ²	2,082	2,061	2,059	0,844	1,951

1) Carboidrati non strutturali. 2) Energia netta latte

Tabella 4. Contenuto in acidi fenolici ($\mu\text{g/g}$ di SS) nei concentrati utilizzati durante la sperimentazione.

	C0	C10	C20	Crusca
ferulico	1176	1491	1607	1927
sinapico	101	187	219	341
p-cumarico	207	190	157	91
siringico	79	120	79	71
vanillico	28	43	38	36
4-idrossibenzoico	14	16	14	17
Totale polifenoli	1605	2046	2114	2484

Tabella 5. Ingestioni degli alimenti, dei principi alimentari, di energia e dei polifenoli realizzate durante la prova

		Dieta (D)			Periodo (P)		Periodo 1			Periodo 2			Significatività (1)		
		C0	C10	C20	1	2	C0	C10	C20	C0	C10	C20	D	P	D*P
Fieno	kg SS/d	8,80 ^A	8,40 ^B	7,85 ^C	8,39	8,32	8,80 ^a	8,40 ^b	7,96 ^c	8,79 ^a	8,41 ^b	7,74 ^d	***	*	***
Concentrato	kg SS/d	12,46 ^B	12,97 ^A	13,05 ^A	12,88	12,77	12,47 ^c	12,95 ^b	13,23 ^a	12,46 ^c	12,97 ^b	12,87 ^b	***	***	***
Totale	kg SS/d	21,26 ^A	21,37 ^A	20,90 ^B	21,27	21,08	21,27 ^a	21,35 ^a	21,20 ^a	21,25 ^a	21,38 ^a	20,61 ^b	***	***	***
PG	kg SS/d	3,08 ^A	3,10 ^A	3,04 ^B	3,09	3,06	3,09 ^a	3,10 ^a	3,09 ^a	3,08 ^a	3,11 ^a	3,00 ^b	***	***	***
NDF	kg SS/d	7,06 ^b	7,13 ^a	7,08 ^b	7,12	7,06	7,07 ^{bc}	7,13 ^{ab}	7,18 ^a	7,06 ^{cd}	7,14 ^{ab}	6,98 ^e	*	***	***
ADF	kg SS/d	4,72 ^A	4,63 ^B	4,42 ^C	4,61	4,57	4,72 ^a	4,63 ^b	4,48 ^c	4,71 ^a	4,64 ^b	4,36 ^d	***	***	***
ADL	kg SS/d	0,71 ^B	0,70 ^A	0,73 ^A	0,73	0,72	0,72 ^b	0,73 ^a	0,74 ^a	0,72 ^b	0,74 ^a	0,72 ^b	***	***	***
CNS	kg SS/d	8,76 ^A	8,82 ^A	8,41 ^B	8,70	8,63	8,76 ^a	8,81 ^a	8,53 ^b	8,76 ^a	8,83 ^a	8,30 ^c	***	***	***
ENL	MJ/d	139,7 ^{Bc}	141,6 ^{Aa}	140,3 ^{ABb}	141,1	139,9	139,8 ^b	141,4 ^a	142,2 ^a	139,7 ^b	141,7 ^a	138,3 ^b	***	***	***
Polifenoli	g/d	20,0 ^C	26,5 ^B	27,6 ^A	24,83	24,58	20,01 ^c	26,49 ^b	27,97 ^a	20,00 ^c	26,54 ^b	27,21 ^a	***	***	***

(1) + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo; A, B, C: P≤0,01; a, b, c, d: P≤0,05.

Tabella 6. Produzione, composizione e parametri reologici del latte individuale.

		Dieta (D)			Periodo (P)		Periodo 1			Periodo 2			Significatività (1)		
		C0	C10	C20	1	2	C0	C10	C20	C0	C10	C20	D	P	D*P
Latte	kg/capo d	25,6	25,7	25,5	26,5	24,7	26,2	26,6	26,6	25,0	24,9	24,3	ns	***	ns
Lattosio	%	4,90	4,98	4,92	4,98	4,89	4,93	5,03	4,98	4,88	4,93	4,85	ns	***	ns
Grasso	%	4,10	4,05	4,01	4,09	4,02	4,11	4,09	4,07	4,09	4,02	3,95	ns	ns	ns
Proteina	%	3,51 ^b	3,50 ^b	3,60 ^a	3,50	3,58	3,48 ^{bc}	3,43 ^c	3,58 ^{ab}	3,54 ^{ab}	3,57 ^{ab}	3,62 ^a	+	***	*
Caseina	%	2,72 ^b	2,71 ^b	2,77 ^a	2,72	2,75	2,70	2,67	2,78	2,73	2,74	2,77	+	**	ns
Sieroproteine	%	0,72	0,70	0,72	0,69	0,73	0,70	0,68	0,69	0,75	0,71	0,74	ns	**	ns
NNP	%	0,032	0,032	0,033	0,029	0,035	0,029	0,028	0,031	0,035	0,035	0,035	ns	***	ns
Urea	mg/dl	22,9	21,5	22,3	20,5	24,0	20,9	19,7	20,8	24,8	23,4	23,7	ns	***	ns
CCS	log10 n/ml	5,22	5,22	5,44	5,22	5,36	5,20	5,15	5,32	5,23	5,29	5,56	ns	***	ns
pH		6,67	6,69	6,72	6,75	6,64	6,73	6,75	6,76	6,61	6,63	6,67	ns	***	ns
SH	°SH/50	4,00	3,93	3,82	3,81	4,03	3,82	3,85	3,75	4,19	4,00	3,89	ns	***	ns
r	min	17,8 ^b	18,7 ^{ab}	19,6 ^a	19,5	17,9	18,8	19,4	20,2	16,9	17,9	19,0	+	***	ns
k ₂₀	min	3,6	3,3	3,4	3,6	3,2	3,7	3,5	3,6	3,4	3,0	3,2	ns	**	ns
a ₃₀	mm	31,9	36,6	35,3	32,8	36,4	31,0	33,7	33,8	32,7	39,5	36,9	ns	***	ns
a _{2r}	mm	32,3 ^b	40,0 ^a	42,9 ^a	37,0	39,7	31,6	37,1	42,3	32,9	42,8	43,5	***	**	ns

(1) + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo; a, b, c, d: P≤0,05

Tabella 7. Parametri della condizione di stress ossidativo, del metabolismo energetico, proteico e dell'efficienza del sistema immunitario delle bovine

		Dieta (D)			Controllo (C)		Controllo giorno 14			Controllo giorno 100			Significatività ¹		
		C0	C10	C20	14	100	C0	C10	C20	C0	C10	C20	D	C	D*C
Polifenoli totali	µg /ml GAE	133,6 ^B	153,1 ^A	154,2 ^A	141,0	153,0	120,7 ^b	155,2 ^a	147,6 ^a	147,1 ^a	151,1 ^a	160,8 ^a	***	*	*
Polifenoli liberi	µg /ml GAE	27,0 ^B	31,8 ^A	31,6 ^A	30,7	29,6	30,8 ^{bc}	33,6 ^{abc}	27,6 ^d	23,2 ^e	29,9 ^{cd}	35,6 ^a	***	ns	***
Polifenoli legati	µg /ml GAE	106,3 ^b	120,7 ^a	123,8 ^a	110,3	123,2	89,0 ^b	121,1 ^a	120,6 ^a	123,5 ^a	120,2 ^a	126,0 ^a	*	*	**
ROMs	U.Carr	115,3 ^{Bb}	106,3 ^{ABa}	103,8 ^{Aa}	101,4	115,5	108,4 ^c	93,6 ^f	102,2 ^{cdf}	122,2 ^a	119,0 ^b	105,4 ^{cd}	*	***	*
BAP	µEq/L	2743	2868	2831	2570	3058	2456	2657	2595	3030	3078	3067	ns	***	ns
IPA ²	log BAP / ROMs*100	3,03 ^B	3,30 ^{AB}	3,35 ^A	3,41	3,05	3,18 ^b	3,65 ^a	3,39 ^{ab}	2,88 ^d	2,95 ^c	3,31 ^{ab}	*	**	*
NEFA	mmol/L	0,17	0,19	0,21	0,22	0,16	0,18	0,23	0,25	0,16	0,15	0,17	ns	*	ns
BHBA	mmol/L	0,32	0,34	0,35	0,36	0,32	0,36	0,36	0,35	0,28	0,33	0,35	ns	ns	ns
FT3	pg/ml	3,49	3,77	3,91	4,08	3,36	4,09 ^a	4,41 ^a	3,74 ^{ab}	2,88 ^d	3,13 ^{bc}	4,07 ^a	ns	***	**
FT4	ng/dl	5,08	4,68	4,45	7,12	2,34	7,86	6,95	6,53	2,29	2,40	2,36	ns	***	ns
Insulina	µg/l	0,29	0,28	0,29	0,22	0,34	0,25	0,21	0,21	0,32	0,34	0,36	ns	***	ns
IGF-1	ng/ml	32,9	33,6	29,4	35,3	28,7	35,0	36,6	34,3	30,9	30,7	24,5	ns	ns	ns
IgG	g/l	20,68 ^{Bc}	20,72 ^{Bb}	20,83 ^{Aa}	20,03	21,46	20,03 ^d	20,03 ^d	20,02 ^d	21,34 ^c	21,41 ^b	21,63 ^a	***	***	***
Proteine totali	g/l	79,4	76,3	74,8	75,8	77,9	77,9	76,3	73,3	80,9	76,3	76,3	ns	ns	ns
Albumine	g/l	46,8	46,6	46,4	46,4	46,8	46,5	46,4	46,1	47,2	46,8	46,7	ns	ns	ns
Globuline	g/l	32,6	29,8	28,3	29,4	31,1	31,4	30,0	27,2	33,8	29,5	29,4	ns	ns	ns
Colesterolo	mmol/l	3,3	3,1	3,1	3,2	3,1	3,4	3,1	3,0	3,2	3,0	3,1	ns	ns	ns

¹+ P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo; A, B, C: P≤0,01; a, b, c, d: P≤0,05. ² IPA = Indice protezione antiossidante

Tabella 8. Composizione chimico-fisica del formaggio (% SS)

	Dieta (D)			Periodo (P)		Stagionatura		Significatività (1)			
	C0	C10	C20	1	2	15	30	D	P	S	D*P
SS	68,00	68,31	68,62	68,59	68,03	68,14	68,48	ns	ns	ns	ns
SO	94,45	94,52	95,39	94,40	95,17	94,80	94,77	ns	ns	ns	ns
EE	45,11	44,99	44,84	44,55	45,41	45,26	44,71	ns	ns	ns	ns
PG	45,57	45,89	46,32	45,72	46,12	46,05	45,80	ns	ns	ns	ns
NS	0,641	0,654	0,796	0,626	0,769	0,619	0,775	ns	*	*	ns
Ceneri	5,55	5,57	5,36	5,66	5,32	5,44	5,54	ns	ns	ns	ns
NS/NT	9,16	9,09	11,02	8,82	10,69	8,71	10,81	ns	*	*	ns
pH	5,23	5,20	5,21	5,17	5,25	5,19	5,24	ns	ns	ns	ns

(1) * $P \leq 0,05$; ns = non significativo.

Tabella 9. Parametri del colore e della resistenza alla compressione del formaggio

		Dieta(D)			Periodo (P)		Stagionatura (S)		Significatività (1)			
		C0	C10	C20	1	2	15	30	D	P	S	D*P
Crosta esterna	Luminosità L*	65,54 ^{Aa}	64,11 ^{Ab}	62,23 ^{Bc}	63,74	64,19	64,99	62,93	***	ns	***	ns
	Indice del rosso a*	-3,80	-3,58	-3,86	-3,25	-4,25	-3,88	-3,61	ns	***	ns	ns
	Indice del giallo b*	11,80	11,69	13,10	11,17	13,22	12,63	11,76	ns	***	ns	ns
Pasta interna	Luminosità L*	82,36	81,48	82,65	80,75	83,58	83,28	81,04	ns	***	***	ns
	Indice del rosso a*	-3,22 ^{ab}	-2,91 ^b	-3,44 ^a	-2,95	-3,43	-3,28	-3,11	*	***	ns	ns
	Indice del giallo b*	11,53	11,50	12,37	11,09	12,51	12,42	11,18	ns	***	***	ns
Resistenza massima alla compressione N/mm ²		0,67	0,63	0,56	0,61	0,64	0,59	0,66	ns	ns	ns	ns

(1) * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo; A, B, C: P≤0,01; a, b, c, d: P≤0,05.

Tabella 10. Contenuto in polifenoli ed indici di ossidazione lipidica primaria (n. perossidi), secondaria (TBARs) e contenuto di sostanze antiossidanti (FRAP) nei formaggi

		Dieta (D)			Periodo (P)		Stagionatura (S)		Significatività (1)			
		C0	C10	C20	1	2	15	30	D	P	S	D*P
Polifenoli totali	mg GAE/g	3,65 ^b	3,73 ^{ab}	4,21 ^a	3,57	4,15	3,90	3,82	+	*	ns	ns
N° Perossidi	mEqO ₂ /kg	1,30 ^A	1,13 ^{AB}	1,04 ^B	1,11	1,21	1,14	1,18	*	ns	ns	ns
TBARs	µg MDA/kg	4,09	3,95	3,70	3,26	3,53	3,87	3,93	ns	ns	ns	ns
FRAP	µmol FeSO ₄ /g	1518 ^b	1742 ^{ab}	1848 ^a	1542	1864	1653	1753	+	*	ns	ns

(1) + P≤0,10; * P≤0,05; ns = non significativo; A, B, C: P≤0,01; a, b, c, d: P≤0,05.

Tabella 11. Costo della razione (€/d/capo) ingerita dagli animali ed indici di efficienza di conversione degli alimenti

	Dieta (D)			Periodo (P)		Periodo 1			Periodo 2			Significatività (1)		
	C0	C10	C20	1	2	C0	C10	C20	C0	C10	C20	D	P	D*P
Concentrato	3,65 ^A	3,60 ^B	3,39 ^C	3,54	3,55	3,63 ^a	3,58 ^b	3,41 ^c	3,66 ^a	3,64 ^a	3,37 ^d	***	ns	***
Fieno	1,00 ^A	0,96 ^B	0,89 ^C	0,95	0,95	1,00 ^a	0,96 ^b	0,91 ^c	1,00 ^a	0,96 ^b	0,88 ^d	***	*	***
Totale	4,65 ^A	4,56 ^B	4,28 ^C	4,50	4,50	4,64 ^{ab}	4,53 ^d	4,32 ^e	4,66 ^a	4,59 ^c	4,25 ^f	***	ns	***
heFCEpg ²	0,57 ^C	0,62 ^B	0,67 ^A	0,65	0,60	0,59	0,65	0,71	0,56	0,60	0,64	***	***	ns
heFCEel ³	0,54 ^C	0,59 ^B	0,62 ^A	0,60	0,57	0,55	0,60	0,63	0,53	0,57	0,61	***	***	ns
NFPpg ⁴	-670 ^A	-560 ^B	-441 ^C	-514	-601	-637	-511	-392	-703	-609	-490	***	***	ns
NFPel ⁵	-68,2 ^A	-58,7 ^B	-49,5 ^C	-57,7	-59,9	-67,0	-57,4	-48,6	-69,3	-59,9	50,3	***	***	ns

¹+ P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo; A, B, C: P≤0,01; a, b, c, d: P≤0,05.

²= heFCEpg, human-edible food conversion ratio = indice dell'efficienza di conversione della proteina grezza;

³= heFCEel, human-edible food conversion ratio = indice dell'efficienza di conversione della energia lorda;

⁴= NFPpg, net food production = produzione netta di alimenti in termini di proteina grezza;

⁵= NFPel, net food production = produzione netta di alimenti in termini di energia lorda

6. - 2° contributo sperimentale

Effetti di diversi piani alimentari a base di crusca e dell'età di macellazione sulla produzione di carne ovina

6.1. Riassunto

In Sicilia, il settore delle carni ovine, caratterizzato da una forte stagionalità, da un'eccessiva frammentazione dell'offerta e dalla mancanza di standard qualitativi di riferimento, necessita di innovazioni tecniche che, migliorando il sistema di produzione e la qualità del prodotto, inducano un aumento del consumo di carne di agnello. Vi è, pertanto, l'esigenza di definire e mettere in atto modelli di produzione che prevedano di elevare il peso di macellazione degli agnelli per ottenere carcasse più pesanti e muscolose rispetto ai tradizionali agnelli da latte. Il regime alimentare, anche attraverso l'utilizzo di fonti alimentari reperibili localmente e di basso costo, è uno dei fattori su cui intervenire per ottenere carcasse e carni qualitativamente apprezzabili mantenendo adeguati livelli di efficienza tecnica ed economica del sistema produttivo.

In questa prova si è voluto, quindi, verificare la possibilità di aumentare il peso della carcassa di agnelli di razza da latte, e produrre carne a basso contenuto in grasso aumentando l'età alla macellazione a 90 e 120 d, e mettendo in atto strategie alimentari che prevedono la riduzione del livello nutritivo attraverso una restrizione alimentare al 75%, e l'impiego di sottoprodotti reperibili a basso costo come la crusca di grano duro.

Nella prova sono stati utilizzati 70 agnelli di razza Valle del Belice e di entrambi i sessi che, appena svezzati a circa 35 d di età, sono stati divisi in 2 gruppi omogenei e sottoposti ad un periodo di 10 d di adattamento alle nuove condizioni di stabulazione in box di gruppo su lettiera ed alle diete sperimentali. I gruppi hanno ricevuto una dieta, somministrata a volontà, costituita da fieno di erba medica in pellets integrato con mangimi concentrati isoproteici ed isoenergetici contenenti crusca di grano duro allo 0% (CGD0) o al 20% (CGD20) di inclusione. Dopo 45 d di prova, entrambi i gruppi sono stati ulteriormente suddivisi in 3 sottogruppi; due di questi erano costituiti da 15 agnelli che sono stati macellati a 90 d di età (90DV), mentre gli altri 4 sottogruppi

hanno ricevuto per 30 d, fino alla macellazione a 120 d di età, la stessa dieta del periodo precedente somministrata a volontà (120DV) o razionata ad un livello pari al 75 % del consumo a volontà (120DR).

L'ingestione alimentare ed il peso vivo degli agnelli sono stati regolarmente registrati. Dopo la macellazione, sono state rilevate le caratteristiche della carcassa e la composizione tissutale (muscolo, grasso e osso) della coscia destra. Su campioni del muscolo *Longissimus dorsi* (LD) sono stati valutati il pH e il colore della carne e del grasso; le perdite di scongelamento e cottura; la tenerezza, misurata sulla carne cotta come sforzo al taglio mediante il test Warner Bratzler Shear Force eseguito su un Instron 5564; la composizione chimica, il contenuto in acidi fenolici e la capacità antiossidante (saggio TEAC); le proprietà sensoriali mediante test triangolari. I dati sono stati analizzati utilizzando la procedura GLM del SAS 9.2 (2010) e il test di Tukey per i confronti tra le medie.

In entrambe le fasi, da 45 a 90 d e da 90 a 120 d di età, la dieta non ha influenzato l'ingestione e le prestazioni di crescita degli agnelli alimentati a volontà (90DV e 120DV), mentre, nel periodo 90-120 d, tra gli agnelli sottoposti alla restrizione alimentare (120DR), quelli alimentati con la dieta CGD20 hanno mostrato una forte riduzione del ritmo di crescita rispetto agli agnelli che ricevevano la dieta priva di crusca (CGD0) (105 vs 170 g/d, $P \leq 0,05$). Inoltre, in tutti i sistemi di produzione, la dieta non ha influenzato il peso della carcassa, mentre tra gli agnelli 120DR, quelli alimentati con la dieta CGD20 hanno fatto registrare una riduzione della resa alla macellazione (52,3 vs. 55,6%, $P \leq 0,01$).

Il livello di deposizione adiposa, definito in base all'incidenza del grasso perirenale e pelvico e del tessuto adiposo della coscia, è aumentato passando dagli agnelli 90DV ai 120DR, e quindi ai 120DV, indipendentemente dalla dieta. Nel complesso, le caratteristiche fisiche della carne del LD hanno subito l'effetto del sistema di produzione, in quanto la carne degli agnelli 90DV ha mostrato maggiori perdite allo scongelamento e alla cottura, una minore tenerezza ed una colorazione rossa meno intensa rispetto alla carne degli agnelli di maggiore età. Di contro, l'assunzione di crusca con la dieta ha contribuito a ridurre il grasso e ad aumentare le proteine, i polifenoli e la capacità antiossidante nella carne del LD degli agnelli di 120 d d'età, che ha così acquisito caratteristiche in grado di riflettersi a livello organolettico e salutistico.

Ai test triangolari, i degustatori sono stati in grado di percepire, in modo significativo, le differenze dovute alla dieta per la carne 90DV e per quella 120DR ($P \leq 0,05$), come anche quelle dovute al diverso livello di alimentazione ($P \leq 0,01$).

In definitiva, questi risultati dimostrano come l'aumento dell'età di macellazione di agnelli di razza da latte a 120 d consenta di produrre, con maggiore efficienza economica, carcasse più pesanti, e di migliorarne la qualità della carne in termini di tenerezza e ritenzione idrica, soprattutto per effetto del moderato aumento del tenore in grasso, anche quando gli agnelli sono stati esposti ad una alimentazione razionata. L'impiego della crusca di grano duro ha determinato un peggioramento delle prestazioni produttive solo quando è stata associata alla restrizione alimentare ma, indipendentemente dal livello nutritivo adottato, ha contribuito a migliorare le proprietà antiossidanti della carne di agnello.

6.2. Introduzione

Lo sviluppo di sistemi zootecnici efficienti e produttivi implicano l'introduzione in azienda di innovazioni che riguardano il processo e/o il prodotto. Il settore della carne ovina in Sicilia mostra da tempo una forte esigenza di innovazione nel sistema produttivo e nella tipologia di prodotto; esso, infatti, soffre di una eccessiva frammentazione e di una forte stagionalità dell'offerta, oltre che dell'assenza di standard qualitativi di riferimento, aspetti che ne hanno indebolito i consumi e lo hanno esposto alla concorrenza del prodotto estero.

Ai fini del rilancio e dello sviluppo del comparto della carne ovina in Sicilia, è necessario, quindi, che il prodotto acquisisca sul mercato maggiore competitività nei confronti di quello estero attraverso l'introduzione di modelli innovativi di produzione che garantiscano remuneratività ai produttori ed elevati requisiti qualitativi al prodotto. È importante, poi, che le innovazioni introdotte vengano coadiuvate da attività divulgative che inducano i produttori alla predisposizione di disciplinari e all'istituzione di marchi di riconoscimento della tipicità della carne di agnello siciliano, oltre che da campagne informative e promozionali che contribuiscano ad adeguare l'aumento dell'offerta all'aumento dei consumi evitando di incrementare ulteriormente le importazioni.

Per rilanciare la produzione ed il consumo di carne ovina siciliana, è importante definire e attuare modelli produttivi che consentano di elevare il peso di macellazione degli agnelli per ottenere carcasse di agnellone di 12-15 kg, più pesanti e muscolose del tradizionale agnello da latte.

Le carcasse di maggiore peso, peraltro, sono caratterizzate da una più elevata resa alla macellazione, un più alto rapporto muscolo:osso e, quindi, una resa in carne superiore che le rende più idonee alla sezionatura in tagli da destinare a preparazioni di facile uso culinario e rapida cottura. Inoltre, la carne è più matura, con la giusta adiposità, più sapida e con migliori caratteristiche organolettiche e nutrizionali.

Per ottenere carcasse e carne di apprezzabile qualità, e nel contempo mantenere adeguati livelli di efficienza tecnico-economica del piano produttivo, il regime alimentare è certamente uno degli aspetti da modulare con attenzione. Pertanto, al fine di contribuire al rilancio della produzione e del consumo della carne ovina in Sicilia, in questa sperimentazione vengono proposte e valutate soluzioni tecniche riguardanti le fasi di allevamento degli agnelli di razza da latte che, con particolare riguardo alla dieta, puntino da un lato alla riduzione dei costi di alimentazione, e dall'altro all'aumento dell'età alla macellazione per l'ottenimento di carcasse di 12-15 kg, più pesanti di quelle dell'agnello da latte, garantendo nel contempo caratteristiche nutrizionali ed organolettiche della carne apprezzabili dai consumatori.

Ai fini della riduzione dei costi di alimentazione, in questa sperimentazione viene proposto l'impiego di uno dei principali sottoprodotti dell'industria molitoria, la crusca di grano duro, economica e facilmente reperibile sul territorio siciliano, caratterizzata da un elevato tenore in fibra, unitamente ad un particolare dotazione in composti fenolici, e in acido ferulico in particolare, con spiccate proprietà antiossidanti (Hatcher e Kruger, 1997; Lempereur et al., 1997; Baublis et al., 2002). La presenza di polifenoli nella dieta degli animali in produzione zootecnica si rende senz'altro vantaggiosa nel migliorare lo stato ossidativo e, quindi, le condizioni di benessere e di salute degli animali (Luciano et al., 2011), ma anche nel favorire il trasferimento di sostanze antiossidanti nei prodotti di origine animale, dando origine ad alimenti più sicuri da un punto di vista igienico sanitario, più stabili in termini di conservabilità, e dotati di proprietà salutistiche benefiche per i consumatori.

Nello specifico, con questa sperimentazione ci si è posti l'obiettivo di confrontare piani alimentari che, in funzione dell'età alla macellazione (90 e 120 d), si diversificano per la presenza della crusca di grano duro e per la modalità di somministrazione (razionata o a volontà) della dieta, valutandone l'effetto sul consumo e sulla conversione alimentare, sulle prestazioni di crescita e sulle caratteristiche quantitative e qualitative della carcassa e della carne di agnelli di razza Valle del Belice allevati in box multipli.

A tal fine, agli agnelli in prova sono state somministrate, con modalità razionata o a volontà, diete in cui la comune base foraggera, costituita da fieno di erba medica in pellets, è stata integrata con uno di due mangimi concentrati isoproteici ed isoenergetici che contenevano lo 0% o il 20% di crusca di grano duro. L'effetto della presenza della crusca nella dieta è stata valutata anche in termini di economicità, in base al suo contributo alla riduzione dei costi di alimentazione, e per i riflessi sulle proprietà antiossidanti della carne degli agnelli, queste ultime attribuibili all'eventuale trasferimento nelle carni degli acidi fenolici contenuti nella crusca e dotati di attività antiossidante.

In pratica, per la produzione di agnelli leggeri di 90 d, nella fase da 45 a 90 d d'età sono state testate le diete con mangime contenente lo 0% o il 20% crusca, entrambe somministrate a volontà.

Per la produzione di agnelli leggeri di 120 d, i piani alimentari da 45 a 120 d d'età sono stati, invece, i seguenti:

- a) dieta con mangime con lo 0% di crusca a volontà;
- b) dieta con mangime con lo 0% di crusca a volontà fino a 90 d, e poi somministrazione razionata;
- c) dieta con mangime con il 20% crusca a volontà;
- d) dieta con mangime con il 20% crusca a volontà fino a 90 d, e poi somministrazione razionata.

In definitiva, nella prima fase, da 45 a 90 d d'età, quando la crescita muscolare degli agnelli è più rapida e la deposizione adiposa è contenuta, non si è operata alcuna restrizione alimentare, ma si è puntato alla riduzione del costo della razione introducendo nel mangime il 20% di crusca. Successivamente, nella fase da 90 a 120 d d'età, quando la tendenza adipogenetica degli agnelli all'ingrasso è maggiore, si è

voluta verificare la possibilità di operare una riduzione degli apporti nutrizionali con la dieta, al fine di ottenere un miglioramento della conversione alimentare e della qualità della carcassa e della carne degli agnelli, soprattutto per quanto riguarda il livello di deposizione adiposa; allo scopo, si è adottata una moderata restrizione alimentare, attuata somministrando una quantità di alimenti pari al 75% del consumo a volontà.

6.3. Materiale e metodi

6.3.1. Agnelli, diete e disegno sperimentale

La sperimentazione è stata condotta nel periodo aprile-giugno del 2014 presso l'azienda privata Bulfara, sita nel territorio del comune di Alimena (PA) in contrada Chiappara (altitudine 650 m s.l.m., lat 37°40'11" N, long 14°6'56.91" E).

Per la prova sono stati selezionati 70 agnelli di razza Valle del Belice che, appena svezzati a circa 35 d di età, sono stati ripartiti in due gruppi di 35 soggetti ciascuno, omogenei per sesso, tipo di parto (singolo e gemellare), età e peso vivo.

I gruppi di agnelli sono stati, quindi, trasferiti in un ovile al chiuso dove, a partire da quel momento fino all'età media di 90 d, ciascuno di essi è stato ripartito in due ulteriori gruppi, di 17 e 18 soggetti, che sono stati alloggiati in due box su lettiera con paddock esterno, dove sono stati subito alimentati con la dieta sperimentale. Tutti i box erano dotati di due mangiatoie lineari poste internamente, ciascuna di 3,7 m, e di un abbeveratoio a vasca collocato all'esterno.

La prova ha avuto inizio dopo 10 giorni di adattamento alle nuove condizioni di stabulazione ed al trattamento alimentare, quando gli agnelli hanno raggiunto un'età media di 44 ± 6 d d'età e un peso vivo medio di $16,2 \pm 2,7$ kg.

Le diete sperimentali, somministrate a volontà, prevedevano una comune base foraggera, costituita da fieno di erba medica in pellets, integrata con mangimi concentrati isoproteici ed isoenergetici (proteina grezza (PG) 23,2 e 22,1 % sulla sostanza secca (SS), ed energia netta carne (ENC) 1,97 e 1,94 Mcal/kg SS) contenenti un diverso livello di crusca di grano duro: dieta **CGD0**, con mangime contenente il 66% di favino, il 34% di orzo e lo 0% di crusca, e dieta **CGD20**, con mangime contenente il 58% di favino, il 22% di orzo ed il 20% di crusca.

Gli agnelli ricevevano giornalmente, sulla base del gruppo di appartenenza, le razioni di fieno e di mangime che venivano loro somministrate in mangiatoie separate, suddividendole in due pasti, la mattina ed il pomeriggio.

Dopo 45 d di alimentazione a volontà, ciascun gruppo è stato suddiviso in 3 sottogruppi; un primo sottogruppo, costituito da 15 agnelli, è stato subito macellato all'età media di 90 d, quindi denominato **90DV**, mentre gli altri due sottogruppi, entrambi costituiti da 10 soggetti, sono stati sottoposti, fino alla macellazione effettuata ad un'età media di 120 d, ad una diversa modalità di somministrazione della dieta, a volontà (**120DV**) o razionato (**120DR**) ad un livello pari al 75% del consumo a volontà registrato dal sottogruppo 120DV nella settimana precedente. In questa fase, dai 90 ai 120 d di età, ciascun sottogruppo è stato alloggiato in un box su lettiera in condizioni di stabulazione e di alimentazione analoghe a quelle descritte per la fase precedente.

I fattori di variazione considerati sono stati quindi la dieta, con lo 0% o il 20% crusca (CGD0 e CGD20) ed il piano produttivo (90DV, 120DR e 120DV) definito dall'età alla macellazione (90 e 120 d) e dalla modalità di somministrazione della dieta tra i 90 ed i 120 d d'età (razionato e a volontà).

6.3.2. Rilevamenti e analisi

Nel corso della prova, le quantità degli alimenti somministrati e dei relativi residui sono state pesate giornalmente per il calcolo dei consumi alimentari di gruppo.

I campioni di alimenti (fieno, crusca e mangimi) sono stati prelevati con cadenza bisettimanale. Gli stessi sono stati macinati con una griglia di 1 mm per le successive analisi chimiche. La SS è stata determinata in stufa a 105°C fino al raggiungimento di un peso costante; le ceneri in muffola a 550°C per 3 h; per il calcolo della PG, l'azoto, determinato con il metodo Kjeldahl, è stato moltiplicato per il coefficiente 6,25; l'estratto etereo (EE) è stato determinato con il metodo Soxhlet (AOAC, 2000). La fibra al detergente neutro (NDF), la fibra al detergente acido (ADF) e la lignina al detergente acido (ADL) sono stati determinati con il metodo di Van Soest *et al.* (1991). La percentuale in carboidrati non strutturali (CNS) è stato calcolato per differenza come segue: $CNS \% = 100 - (NDF \% + PG \% + EE \% + ceneri \%)$. Il contenuto energetico, espresso in Mcal di energia netta carne (ENC) è stato stimato utilizzando le equazioni messe a punto dal National Research Council (1985) per la stima della digeribilità della

SS ($\text{DSS \%} = 85,1 - (4,24 \times \text{ADL\%})$), delle Total Digestible Nutrients ($\text{TDN \%} = \text{DSS \%} - \text{ceneri \%} + (1,25 \times \text{EE \%}) + 1,9$) e, quindi della ENC ($((0,01 \times \text{TDN \%}) \times 2,86 - (35,5/(100 - \text{ADF \%})))$).

Il contenuto in acidi fenolici totali ed in acido ferulico degli alimenti è stato determinato con il metodo proposto da Dinelli et al. (2009).

Di tutti gli alimenti utilizzati nella prova sono stati preparati gli estratti su cui testare le loro proprietà antiossidanti in base alla determinazione del contenuto in composti fenolici totali con il metodo Folin–Ciocalteu e della capacità antiossidante mediante saggio TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity).

L'estrazione dei composti fenolici dagli alimenti è stata effettuata seguendo la procedura descritta da López-Andrés et al. (2013). Gli alimenti (2,5 g), finemente macinati (<1mm), sono stati pesati in una provetta da centrifuga di 50 ml, e quindi omogeneizzati con 15 ml di una soluzione di acetone e acqua (70/30; v/v) per 60 secondi a 4000 giri usando un omogeneizzatore ad alta velocità (Art-Micra D-8, moderne Labortechnik, Müllheim, Germania). I campioni sono stati, quindi, sonicati per 6 minuti (con una interruzione di 2 minuti dopo i primi 3 minuti di sonicazione) in un bagno ad ultrasuoni (LBS1 sonicator, Falc Instruments, Treviglio, Italia). Durante l'omogeneizzazione e la sonicazione, i campioni sono stati costantemente mantenuti in un bagno di acqua e ghiaccio. Gli omogenati sonicati sono stati centrifugati a 3000 giri per 15 minuti a 4°C, ed il surnatante, infine, è stato filtrato con carta da filtro Whatman n. 541.

La concentrazione di polifenoli totali negli estratti dei campioni degli alimenti è stata misurata mediante il metodo colorimetrico Folin–Ciocalteu (ISO-14502-1, 2005), come descritto da López-Andrés et al. (2014). In breve, 100 µl dell'estratto di ciascun campione sono stati trasferiti in una provetta da centrifuga di 15 ml in cui sono stati aggiunti 900 µl di acqua distillata e 500 µl del reagente di Folin–Ciocalteu diluito ad una concentrazione 1 N con acqua distillata. Dopo 1 minuto, sono stati aggiunti 2,5 ml di una soluzione di carbonato di sodio al 20% (w/v); la miscela è stata, quindi, agitata al vortex per 30 secondi e poi incubata per 40 minuti al buio a temperatura ambiente. L'assorbanza dei campioni, come quella del bianco che conteneva tutti i reagenti tranne l'estratto del campione, è stata letta ad una lunghezza d'onda di 725 nm usando uno spettrofotometro HACH DR/4000U (HACH, Loveland, CO, USA). Soluzioni acquose

di acido gallico a diversa concentrazione (da 0 a 1 mg/ml) sono state usate per costruire la curva di calibrazione ($R^2 = 0,98$). I risultati sono stati espressi in g di acido gallico equivalente per kg di SS del campione (g GAE/kg SS).

L'attività antiossidante degli estratti dei campioni degli alimenti è stata analizzata mediante saggio TEAC, come descritto da Re et al. (1999). Questo è un test di decolorazione che misura l'abilità dei campioni di neutralizzare i radicali liberi usando il catione radicalico ABTS $\bullet+$ ed il trolox come standard. Il catione radicalico ABTS $\bullet+$ è stato ottenuto facendo reagire una soluzione acquosa 14 mM di ABTS (acido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico)) con un eguale volume di una soluzione di persolfato di potassio 4,9 mM, e incubando la miscela al buio a temperatura ambiente per 16 ore prima dell'uso per consentire la completa radicalizzazione dell'ABTS. La soluzione del catione radicalico ABTS $\bullet+$ è stata diluita con PBS (tampone fosfato salino 5 mM, pH 7,4) ed equilibrato a 30°C per raggiungere un'assorbanza di $0,750 \pm 0,020$ a 734 nm di lunghezza d'onda.

Una lettura in bianco (B_0) a 734 nm è stata effettuata dopo aver miscelato 4 ml della soluzione di ABTS $\bullet+$ diluita con 40 μ l di acqua distillata, e ripetuta (B_6) dopo 6 minuti di incubazione a 30°C per osservare l'eventuale riduzione di assorbanza dovuta alla decolorazione spontanea della soluzione del radicale durante la determinazione, e calcolare la percentuale di inibizione spontanea (IS %) come $((B_0 - B_6)/B_0 \times 100)$. Per ogni campione, 40 μ l del relativo estratto sono stati miscelati con 4,0 ml della soluzione di ABTS $\bullet+$ diluita e ne è stata letta l'assorbanza (S_6) a 734 nm di lunghezza d'onda dopo 6 minuti di incubazione a 30°C. La riduzione percentuale di assorbanza della miscela del campione è stata calcolata come $((B_0 - S_6)/B_0 \times 100)$, ed a questa è stata, quindi, sottratta la percentuale di inibizione spontanea (IS %) della soluzione del radicale. La capacità antiossidante dei campioni è stata calcolata mettendo in relazione la loro percentuale di inibizione con quella, misurata nelle stesse condizioni (dopo 6 minuti a 734 nm), esercitata da soluzioni di concentrazione nota (da 0 a 2,5 mM) di trolox in PBS, ottenute da una soluzione madre di 2,5 mM in PBS e usate per costruire la curva di calibrazione ($R^2 = 0,99$). I risultati sono stati espressi in mmol di trolox equivalente per kg di SS del campione (mmol trolox eq./kg SS).

La composizione chimica, il contenuto in composti fenolici e la capacità antiossidante degli alimenti semplici e dei mangimi concentrati utilizzati, unitamente al

loro costo unitario, desunto dal mercato nel periodo di conduzione della prova, sono riportati nella Tabella 1.

Gli agnelli venivano regolarmente pesati con una cadenza bisettimanale, per valutarne il ritmo di crescita e la conversione alimentare. Due agnelli maschi sono morti, entrambi per cause non riferibili al trattamento alimentare; il primo, alimentato con la dieta CGD0, è morto all'inizio della prima fase di accrescimento (45-90 d), mentre l'altro, alimentato a volontà con la dieta CGD20 crusca, è morto nel corso della seconda fase (90-120 d).

Nel giorno antecedente la macellazione, gli agnelli sono stati pesati, quindi tenuti a digiuno alimentare e non idrico per 12 h, trasportati al macello e ripesati prima dell'abbattimento.

Alla macellazione, si è rilevato il peso della carcassa a caldo, dopo aver eliminato la pelle, le estremità distali degli arti ed i visceri, ed il peso del contenuto gastro-intestinale per il calcolo del peso vivo netto (peso vivo netto = peso vivo a digiuno – peso del contenuto gastro-intestinale). Le carcasse, dopo essere state mantenute a temperatura ambiente ($>10^{\circ}\text{C}$) per 6 h, sono state refrigerate a 4°C per 24 h.

In base ai dati relativi al consumo alimentare, incremento ponderale, peso vivo e peso della carcassa, e ai prezzi, desunti dal mercato, del fieno e degli alimenti utilizzati per la formulazione dei mangimi (Tabella 1), e di quelli degli agnelli riferiti sia al peso vivo (2,5 €/kg) sia alla carcassa a freddo (5 €/kg), sono stati calcolati i relativi costi alimentari e gli utili, questi ultimi come differenza tra l'introito per la vendita del prodotto, in base al peso vivo o al peso della carcassa, ed il costo dell'alimentazione.

Dopo 24 h di refrigerazione a 4°C , la qualità delle carcasse è stata valutata in base alle griglie di classificazione dell'Unione Europea, ai sensi del Regolamento (CEE) 2137/92.

Le carcasse degli agnelli macellati a 90 d sono state valutate utilizzando la classificazione degli agnelli leggeri, per carcasse di peso uguale o inferiore ai 13 kg. Tale classificazione tiene conto di tre categorie di peso della carcassa ($A \leq 7$ kg; $B = 7,1-10$ kg; $C = 10,1-13$ kg) e di due livelli di qualità (1 e 2) per ciascuna categoria di peso che si differenziano in base al colore della carne (rilevato sul fianco, a livello del muscolo retto dell'addome) ed al tenore in grasso (Figura 1: allegato III del Regolamento (CEE) 2173/92).

Le carcasse degli agnelli macellati a 120 d sono state valutate con i criteri di classificazione in vigore per le carcasse di peso superiore ai 13 kg, che tiene conto di 6 classi di conformazione (Figura 2: allegato I del Regolamento (CEE) 2173/92) e di 5 classi dello stato di ingrassamento (Figura 2: allegato II del Regolamento (CEE) 2173/92).

Le carcasse refrigerate sono state, quindi, ripesate e sezionate per separare e pesare la testa, gli organi interni e la mezzena destra. Dalla mezzena destra sono stati a loro volta separati e pesati la coscia destra, poi sezionata per determinarne la composizione tissutale (muscolo, grasso e osso), il grasso perirenale e pelvico e l'intero muscolo *Longissimus dorsi* (LD) come taglio campione. Quest'ultimo è stato suddiviso in tre porzioni, toracica prossimale (8^a-13^a vertebra, muscolo *Thoracis prossimale*), intermedia (muscolo *Thoracis distale*) e distale (muscolo *Longissimus lumborum*).

Il pH della carne è stato misurato sulla parte intermedia del LD, con un pHmetro Hanna FC 200 dotato di elettrodo ad infissione (Hanna Instruments, Baranzate, Milano, Italy).

L'analisi colorimetrica è stata eseguita in doppio sulle sezioni della porzione intermedia del LD e sul grasso perirenale, esposti all'aria per un'ora, mediante colorimetro Minolta CR300 (Minolta, Osaka, Japan) con il sistema CIELAB, utilizzando l'illuminante C; sono stati rilevati la luminosità (L^*), l'indice del rosso (a^*) e l'indice del giallo (b^*), e calcolati croma (intensità del colore, $C=0$ grigio) come $[(a^2+b^2)^{1/2}]$, e tinta ($H=0$ rosso porpora) come $(\arctg b/a)$.

I campioni del LD sono stati, quindi, confezionati in sacchetti di polietilene e congelati a -20°C per le successive determinazioni. Dopo circa due settimane, le porzioni intermedie del LD sono state scongelate per determinarne le perdite di acqua allo scongelamento (a 4°C per 24 h) e alla cottura (in sacchetti di polietilene a bagnomaria a 75°C per circa 40 minuti), e la tenerezza, misurata come sforzo al taglio mediante il test Warner Bratzler Shear Force eseguito su un Instron 5564 (Instron, Trezzano sul Naviglio, Milano, Italy), su tre cilindri di 12,7 mm di diametro recisi da ogni campione di carne cotta.

Figura 1. Allegato III del Regolamento (CEE) 2173/92 del Consiglio relativo alla tabella comunitaria di classificazione delle carcasse di ovini con peso uguale o inferiore ai 13 kg, ai sensi dell'articolo 3, paragrafo 2, terzo comma.

CATEGORIA	A		B		C	
Peso	≤ 7 kg		7,1 – 10 kg		10,1 – 13 kg	
Qualità	1	2	1	2	1	2
Colore della carne	Rosa chiaro	Altro colore	Rosa chiaro o rosa	Altro colore	Rosa chiaro o rosa	Altro colore
Tenore di grasso(*)	(2) (3)	Altro tenore di grasso	(2) (3)	Altro tenore di grasso	(2) (3)	Altro tenore di grasso
(*) Come definito per le carcasse >13 kg: 2 = scarso; 3 = mediamente importante						

Figura 2. Allegati I e II del Regolamento (CEE) 2173/92 del Consiglio relativo alla tabella comunitaria di classificazione delle carcasse di ovini con peso superiore ai 13 kg.

ALLEGATO I CONFORMAZIONE
Sviluppo dei profili delle carcasse e segnatamente delle sue parti essenziali
(quarto posteriore, schiena, spalla)

Classe di conformazione	Descrizione
S superiore	Tutti i profili superconvessi Sviluppo muscolare eccezionale con doppia groppa (groppa di cavallo).
E eccellente	Tutti i profili da convessi a superconvessi; sviluppo muscolare eccezionale.
U ottima	Profili nell'insieme convessi; sviluppo muscolare abbondante.
R buona	Profili nell'insieme rettilinei; sviluppo muscolare buono.
O abbastanza buona	Profili da rettilinei a concavi; sviluppo muscolare medio
P mediocre	Tutti i profili da concavi a molto concavi; sviluppo muscolare ridotto.

ALLEGATO II STATO D'INGRASSAMENTO

Massa di grasso all'esterno della carcassa e sulla parete interna della cassa toracica

Classe di stato di ingrassamento	Descrizione
1 molto scarso	Copertura di grasso da inesistente a molto scarsa.
2 scarso	Sottile copertura di grasso, muscoli quasi ovunque apparenti.
3 mediamente importante	Muscoli, salvo quelli del quarto posteriore e della spalla, quasi ovunque coperti di grasso; scarsi depositi di grasso all'interno della cassa toracica.
4 abbondante	Muscoli, coperti di grasso, ma ancora parzialmente visibili a livello del quarto posteriore e della spalla; qualche massa di grasso all'interno della cassa toracica.
5 molto abbondante	Il grasso ricopre abbondantemente la carcassa; rilevanti masse di grasso all'interno della cassa toracica.

Il tratto prossimale del muscolo LD è stato previamente liofilizzato per essere utilizzato per la determinazione della composizione chimica della carne; le analisi hanno riguardato umidità, lipidi e ceneri, secondo le procedure AOAC (2000), mentre il tenore in proteine è stato calcolato per differenza ($100 - \% \text{ umidità} - \% \text{ lipidi} - \% \text{ ceneri}$).

I campioni liofilizzati del muscolo LD dei soli agnelli maschi (in totale 56 soggetti, di cui 28 90DV, 20 120DR, 16 120DV, 28 CGD0 e 28 CGD20) sono stati utilizzati per preparare i relativi estratti acquosi, secondo la procedura descritta da Luciano et al. (2011), cui sono state apportate lievi modifiche, per misurarne le proprietà antiossidanti in base alle determinazioni del contenuto in composti fenolici totali e della capacità antiossidante, effettuate con gli stessi metodi già descritti per gli alimenti, ovvero il metodo Folin–Ciocalteu per i composti fenolici (ISO-14502-1, 2005), descritto da López-Andrés et al., 2014, ed il saggio TEAC per la capacità antiossidante (Re et al., 1999). Ai fini della preparazione degli estratti, per ciascun campione di muscolo LD liofilizzato e macinato sono stati pesati due sub-campioni da 0,5 g in provette da centrifuga di 50 ml in cui sono stati aggiunti 10 ml di acqua distillata. Entrambi i sub-campioni sono stati omogeneizzati per 60 secondi a 9500 giri

usando un omogeneizzatore ad alta velocità (Art-Miccra D-8, moderne Labortechnik, Müllheim, Germania) e, quindi, sonicati per 6 minuti (con una interruzione di 2 minuti dopo i primi 3 minuti di sonicazione) in un bagno ad ultrasuoni (LBS1 sonicator, Falc Instruments, Treviglio, Italia). Durante l'omogeneizzazione e la sonicazione, i campioni sono stati costantemente mantenuti in un bagno di acqua e ghiaccio. Gli omogeneizzati sonicati sono stati centrifugati a 3000 giri per 15 minuti a 4°C, ed il surnatante, infine, è stato filtrato con carta da filtro Whatman n. 541.

Per l'analisi sensoriale, la carne cotta del tratto distale del muscolo LD è stata valutata in test triangolari, secondo Napolitano et al. (2002). La carne è stata cotta su una griglia elettrica e servita calda. A 12 degustatori in due sessioni è stato chiesto di selezionare il campione di carne differente da 5 combinazioni triangolari, di seguito elencate, con le quali è stata confrontata la qualità sensoriale complessiva della carne proveniente da trattamenti alimentari diversi:

CGD0 vs CGD20 degli agnelli 90DV di 90 d;

CGD0 vs CGD20 degli agnelli 120DR di 120 d razionati;

CGD0 vs CGD20 degli agnelli 120DV di 120 d alimentati a volontà;

razionamento vs a volontà fino a 120 d per gli agnelli CGD0 alimentati con 0% crusca;

razionamento vs a volontà fino a 120 d per gli agnelli CGD20 alimentati con 20% crusca.

Nel contempo, è stato chiesto ai degustatori di indicare il grado di differenza percepita, la caratteristica sulla quale si è basata la differenza, ed il campione eventualmente più gradito. La Figura 3 riporta la scheda appositamente predisposta per far trascrivere le risposte ai degustatori ai test triangolari.

6.3.3. Analisi statistica

I dati sono stati elaborati utilizzando la procedura GLM del SAS 9.2 (2010).

I parametri relativi alle prestazioni in vita sono stati analizzati separatamente per le due fasi di crescita degli agnelli, da 45 a 90 d e da 90 a 120 d d'età. Per la fase 45-90 d, i dati dell'ingestione alimentare di gruppo sono stati analizzati con un modello monofattoriale con il fattore dieta a due livelli (0% e 20% crusca, ovvero CGD0 e CGD20), mentre per la fase 90-120 d, il modello ha preso in considerazione i fattori livello nutritivo della dieta (LN) a due livelli (razionato e a volontà), il fattore dieta (D)

e la loro interazione LN*D. I parametri delle prestazioni di crescita individuali degli agnelli sono stati analizzati con gli stessi modelli in cui è stato incluso anche il fattore sesso.

I parametri *post mortem*, riguardanti la macellazione e le caratteristiche della carcassa e della carne, sono stati statisticamente elaborati secondo un modello comprendente i fattori piano produttivo (PP) a tre livelli (90 d, 120 d razione, 120 d a volontà, ovvero 90DV, 120DR e 120DV), dieta (D), l'interazione PP*D e sesso.

Il test di Tukey è stato utilizzato per confrontare le medie (LSM, least square means) quando l'effetto del fattore PP e delle interazioni è risultato significativo ($P \leq 0,05$).

La significatività delle differenze emerse sulla carne ai test triangolari è stata desunta dalle tabelle standard di Amerine et al. (1965).

Figura 3. Scheda per il test triangolare

N. test _____	data _____
Nome e cognome degustatore _____	
1. Cerchiare il campione differente	A B C
2. Grado di differenza percepita:	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">nessuno o lieve moderato alto</div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin-bottom: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin-bottom: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px;"></div> </div>
3. Principale caratteristica sulla quale si è basata la differenza:	
<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">aspetto generale colore odore</div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin-bottom: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin-bottom: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px;"></div> </div>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;">gusto struttura altro (.....)</div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin-bottom: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px; margin-bottom: 2px;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 30px;"></div> </div>
4. Campione maggiormente gradito e motivazione:	

6.4. Risultati e discussione

La formulazione dei mangimi concentrati, riportata in Tabella 1, mostra come, per rendere i mangimi isoproteici, l'inclusione del 20% della crusca di grano duro abbia comportato la riduzione del favino e dell'orzo di 8 e 12 punti percentuali, rispettivamente. L'inclusione della crusca, che è il componente più fibroso e lievemente meno energetico del mangime, e le conseguenti variazioni apportate alla formulazione, non hanno comunque comportato una riduzione del tenore energetico stimato del mangime, mentre ne hanno sostanzialmente aumentato il tenore in lipidi (EE +0,5%) e, soprattutto, in fibra (NDF +5%, ADL +0,5%), quest'ultima inversamente correlata alla digeribilità, e ridotto il contenuto in carboidrati non strutturali (-5,4%), che rappresentano, dopo i lipidi, i componenti più energetici, costituiti prevalentemente da amido. L'inclusione della crusca nel mangime ne ha fortemente aumentato il contenuto in acidi fenolici totali, costituiti in larga parte da acido ferulico, e quindi del tenore in polifenoli totali. La maggiore capacità antiossidante rilevata nel mangime CDG20 è, certamente, riferibile alla presenza dei composti fenolici della crusca. Infine, la presenza di crusca ha consentito di ridurre il costo unitario del mangime di 3 centesimi di euro.

Le prestazioni in vita e l'ingestione alimentare degli agnelli nel corso della prima fase di accrescimento, da 45 a 90 d d'età, sono riportate in Tabella 2. Né la dieta, né il sesso hanno influenzato il ritmo di crescita degli animali e, quindi, il peso vivo finale a 90 d. Per quanto riguarda i consumi alimentari, gli agnelli che ricevevano la crusca, come ci si aspettava per effetto del maggiore apporto fibroso del mangime, hanno fatto registrare una maggiore ingestione totale di SS, cui hanno contribuito sia il fieno che il concentrato; tuttavia, la differenza tra le diete per l'ingestione totale, seppure marcata, non ha raggiunto la soglia della significatività statistica, così come non si è differenziato tra le diete il rapporto mangime/foraggio dell'ingerito, ovvero l'incidenza del mangime, che per entrambe le diete è risultato abbastanza elevato, intorno al 74%. Effetti significativi della dieta sono emersi per le ingestioni di lipidi e fibra, ovvero di EE, NDF e ADL, più elevate sia con il mangime sia con l'intera dieta con crusca, e riconducibile esclusivamente ai più elevati tenori in EE, NDF e ADF della crusca. Come era da attendersi, la dieta CGD20 ha determinato, da parte degli agnelli, un significativo aumento dei livelli di ingestione di acidi fenolici totali, e di acido ferulico in particolare. La maggiore ingestione della dieta con crusca ha lievemente innalzato gli indici di

conversione alimentare ma, anche in questo caso, le differenze non sono risultate statisticamente significative.

La Tabella 3 riporta le prestazioni in vita e l'ingestione alimentare degli agnelli nel corso della seconda fase di accrescimento, da 90 a 120 d d'età, in cui è entrato in gioco l'effetto della modalità di somministrazione della dieta, razionata al 75% o a volontà. Per quanto riguarda le prestazioni di crescita, i fattori considerati hanno significativamente influenzato il ritmo di accrescimento degli agnelli da 90 a 120 d, che ha subito un effetto positivo della somministrazione a volontà e della dieta priva di crusca. Tuttavia, l'interazione significativa LN*D indica come la dieta con crusca abbia rallentato la crescita dai 90 ai 120 d solo nel caso in cui gli alimenti venivano razionati, mentre lo stesso effetto non si è evidenziato con la somministrazione a volontà. In genere, quando con il razionamento gli animali non soddisfano pienamente le loro esigenze nutrizionali, essi tendono ad una maggiore competizione alimentare; questa, unitamente al significativo maggiore apporto in fibra del mangime e della dieta con crusca, giustificherebbe l'ampio divario registrato nei ritmi di crescita tra gli agnelli che ricevevano le due diverse diete in modo razionato. L'incremento ponderale di tali agnelli dai 45 ai 90 d non ha subito alcuna influenza dei fattori considerati, come già rilevato per la totalità degli agnelli in prova (Tabella 2), mentre quello complessivo, dai 45 ai 120 d, che risente delle variazioni significative nella seconda fase di crescita, è stato influenzato dalla modalità di somministrazione della dieta e dalla tendenza dell'interazione LN*D.

In questa fase d'età più avanzata (90-120 d), in cui cominciano ad emergere i primi segni del dimorfismo sessuale, l'effetto del sesso sull'incremento ponderale dai 90 ai 120 d ha mostrato una tendenza alla significatività che mette in luce la maggiore rapidità di crescita nei maschi rispetto alle femmine (Tabella 3).

L'ingestione di SS e dei diversi nutrienti apportati dal fieno e dal mangime (Tabella 3), come anche l'incidenza dell'ingestione di mangime su quella della dieta, è stata ovviamente influenzata dalla modalità di somministrazione degli alimenti, ovvero dal livello nutritivo, mentre la presenza di crusca nella dieta ha solo determinato un aumento dell'ingestione di EE, NDF e ADL con il mangime, mentre nessun effetto è emerso sull'ingestione di SS del mangime o su quella dei diversi nutrienti con il fieno e con la dieta complessiva.

La effettiva restrizione alimentare realizzata è risultata più spinta rispetto a quella teorica del 75% del consumo a volontà. Il livello di restrizione, infatti, si è attestato intorno al 70%, ed è risultato particolarmente accentuato per il foraggio nella dieta CGD0 (57 e 70% per il fieno delle diete con 0% e 20% di crusca) e abbastanza vicino al livello pianificato per i concentrati (73% per entrambi i mangimi con 0% e 20% di crusca); di conseguenza, nel complesso, essa si è lievemente differenziata tra le diete (69 e 72% per le diete con 0% e 20% di crusca).

Invece, gli indici di conversione alimentare (ICa) (Tabella 3), sebbene risultino non significativamente diversi, si sono elevati fortemente con il razionamento del mangime con il 20% di crusca, evidenziato anche da una tendenza alla significatività della interazione LN*D dell'ICa totale del periodo tra 90 e 120 d, mentre la differenza tra diete non è emersa quando l'alimento è stato somministrato a volontà. Il sesso ha fatto sentire il suo effetto anche sugli ICa nella fase da 90 a 120 d, che ha mostrato valori più elevati nelle femmine che, come è noto, sono caratterizzate da una maggiore precocità nell'adipogenesi rispetto ai maschi, circostanza che, richiedendo un maggiore apporto energetico per la crescita, ne ha peggiorato l'ICa.

Il ritmo di crescita degli agnelli tra i 90 ed i 120 d d'età è risultato del tutto comparabile a quello, pari a 178 g/d, rilevato nella fase tra gli 80 ed i 130 d d'età in agnelli maschi di razza Comisana alimentati a volontà con una dieta costituita da fieno di erba medica in pellets e da un concentrato composto dal 76% di favino e dal 24% di orzo, mentre l'ICa è risultato marcatamente superiore (4,82) (Bonanno et al., 2012).

I parametri relativi alla resa alla macellazione, alle caratteristiche della carcassa ed ai relativi costi e utili economici, sono riportate nelle Tabelle 4 e 5. Il piano produttivo, definito dal peso alla macellazione degli agnelli e dal livello nutritivo con cui è stata somministrata la dieta, ha mostrato un effetto significativo sui pesi degli agnelli vivi nelle fasi pre-macellazione e delle loro carcasse e mezzene, oltre che sul livello di grasso perirenale e pelvico, ovviamente inferiore a 90 d e superiore a 120 d con il più elevato livello nutritivo, sebbene statisticamente non dissimile a 120 d per effetto del livello alimentare.

A 90 d d'età, il peso medio delle carcasse si è attestato sui 12,5 kg; dopo un mese, a 120 d, con il razionamento alimentare il peso delle carcasse è mediamente aumentato di 1,7 kg, portandosi a 14,2 kg, mentre con l'alimentazione a volontà il divario è

risultato più ampio, di 2,7 kg, ottenendo carcasse più pesanti, pari a 15,2 kg. Anche a 90 d, il peso delle carcasse degli agnelli di razza Valle del Belice ha raggiunto pesi superiori a quelli delle carcasse prodotte con agnelli Comisani di 130 d d'età che ricevevano una dieta analoga (11,3 kg) (Bonanno et al., 2012).

Gli agnelli a 90 d hanno pure mostrato una maggiore incidenza della testa e la tendenza verso una minore incidenza di organi interni, da giustificare in base alla crescita precoce della prima, per la sua elevata base ossea, e alla crescita più tardiva delle seconde. Gli effetti del razionamento fino a 120 d si sono manifestati, a livello di tendenza, nell'aumento dell'incidenza dei visceri e del contenuto gastrointestinale e del calo di refrigerazione delle carcasse. In genere, il razionamento provoca il rallentamento del transito gastrointestinale degli alimenti che, stazionando più a lungo nel tratto digerente, favorirebbe l'aumento del suo contenuto e, di conseguenza, del suo volume, e quindi del peso. L'aumento del calo di refrigerazione delle carcasse degli agnelli di 120 d razionati potrebbe spiegarsi, in considerazione della maggiore dotazione in acqua del muscolo rispetto ai tessuti osseo e adiposo, sulla base della loro maggiore superficie muscolare esposta rispetto agli agnelli di 90 d, e della loro minore adiposità (sebbene non a livello statisticamente significativo) rispetto agli agnelli della stessa età alimentati a volontà, come verrà evidenziato successivamente discutendo i parametri riportati nelle Tabelle 7 ed 8.

Indipendentemente dal piano produttivo, le carcasse degli agnelli alimentati con la dieta con crusca hanno mostrato la tendenza verso un minore calo di refrigerazione ed una maggiore incidenza della testa; tali risultati potrebbero essere messi in relazione ad una riduzione del tessuto muscolare della carcassa, più ricco in acqua, a favore di un maggiore sviluppo delle componenti scheletriche come la testa, che è tipico di soggetti che ricevono diete razionate e/o poco energetiche in cui è favorita la crescita dei tessuti più precoci, come quello osseo. Ma, la dieta con crusca ha determinato, soprattutto, la riduzione delle rese alla macellazione per le quali, comunque, è emerso anche un effetto significativo dell'interazione PP*D, dovuto al fatto che, seppure la crusca nel mangime risulti associata a rese inferiori in tutti piani produttivi, il divario tra diete è risultato più ampio e statisticamente significativo solo nel caso degli agnelli di 120 d razionati (Tabella 5). A tale minore resa delle carcasse degli agnelli di 120 d razionati con la dieta con la crusca sembra associato anche il peso medio delle carcasse, minore di circa 1 kg,

sebbene con una differenza non significativa. Tuttavia, una minore resa alla macellazione implica una maggiore incidenza dei componenti che rappresentano le tare di macellazione, ovvero sangue, pelle, visceri e parti distali degli arti. In effetti i visceri vuoti ed il loro contenuto hanno inciso maggiormente negli agnelli di 120 d razionati con la dieta con crusca, sebbene non si siano differenziati significativamente per effetto della dieta o dell'interazione; è, inoltre, presumibile che la riduzione delle rese sia dovuta anche alla maggiore incidenza della pelle e/o delle estremità distali degli arti, entrambi caratterizzati da un sviluppo precoce che viene favorito, come già menzionato, dalla somministrazione di diete razionate e/o poco energetiche, come quelle ricevute dagli agnelli di 120 d razionati alimentati con il 20% di crusca che hanno mostrato, appunto, più basse rese alla macellazione. Il sesso degli agnelli ha influenzato il contenuto gastro-intestinale, inferiore nelle femmine, in genere caratterizzate da una minore ingestione alimentare, che ha contribuito ad aumentarne a livello di tendenza la resa della carcassa a caldo, e significativamente la resa a freddo. Le carcasse delle femmine hanno pure mostrato, come ci si attendeva, una maggiore adiposità data dal tenore in grasso perirenale e pelvico, che ha contribuito ad aumentare la resa della carcassa a freddo. Di contro, i maschi hanno fatto rilevare una maggiore incidenza della testa, che denota un loro maggiore sviluppo scheletrico rispetto alle femmine.

Per quanto riguarda i parametri economici calcolati, l'unica significatività statistica è emersa per effetto del piano produttivo ed ha riguardato i costi di alimentazione, espressi sia sul kg di incremento ponderale che sul kg di carcassa, risultati inferiori per gli agnelli macellati a minore età (90DV). Gli utili, riferiti al peso medio degli agnelli vivi e delle relative carcasse, non si sono differenziati statisticamente, ma hanno mostrato un trend positivo passando dagli agnelli 90DV a quelli 120DR, e ancora ai 120DV che, pertanto, sembrano consentire un maggiore margine di guadagno, mentre si sono ridotti con la dieta con la crusca in tutti i piani produttivi.

I risultati della valutazione delle carcasse in base alle griglie di classificazione dell'Unione Europea sono riportati nella Tabella 6. Indipendentemente dalla dieta, la quasi totalità delle carcasse degli agnelli macellati a 90 d (26/28), che rientravano tutte nella categoria di peso C (10,1–13 kg), è ricaduta nel livello di qualità inferiore, pari a 2, a causa del colore di carne diverso dal rosa chiaro o rosa (6 carcasse), o per il tenore

in grasso “molto scarso” (9 carcasse), o per entrambe le condizioni (11 carcasse). Le carcasse degli agnelli macellati a 120 d, valutate con i criteri di classificazione in vigore per le carcasse di peso superiore ai 13 kg, sono rientrate in classi di conformazione che corrispondono ad uno sviluppo muscolare medio-basso, cioè R (buono) ed O (abbastanza buono), all’interno del quale sono stati riscontrati solo due livelli di grasso, 2 (scarso) e 3 (mediamente importante), per un totale di 4 combinazioni (R2, R3, O2, O3). Con la dieta senza crusca razionata, le carcasse degli agnelli si sono ripartiti nelle 4 combinazioni, mentre con la dieta con crusca razionata la maggior parte delle carcasse sono ricadute nella combinazione O2, caratterizzata da minore muscolosità e meno grasso. Con l’alimentazione a volontà, indipendentemente dalla dieta, la maggior parte delle carcasse è stata classificata in R ed è prevalso un tenore in grasso superiore (R3).

Dalla sezionatura della coscia destra, è risultata la composizione tissutale (muscolo, grasso e osso) riportata nelle Tabelle 7 e 8. L’effetto del piano produttivo, che ha interessato tutti i parametri ad eccezione dell’incidenza dell’osso e del rapporto muscolo:osso, si è evidenziato differenziando, come è normale, gli agnelli di 90 d da quelli di 120 d per il peso e l’incidenza della coscia. L’alimentazione a volontà fino a 120 d ha ridotto l’incidenza del muscolo e favorito quella del grasso, senza modificare significativamente il rapporto muscolo:osso. Come precedentemente evidenziato per gli agnelli di 120 d razionati, il maggiore sviluppo della superficie muscolare rispetto agli agnelli di 90 d, come denotano il maggior peso e la maggiore incidenza della coscia, e il tenore in grasso inferiore a quello degli agnelli di 120 d alimentati a volontà, possono spiegare l’aumento del calo di refrigerazione delle loro carcasse (Tabella 4).

I parametri di sezionatura della coscia, e l’incidenza dell’osso in particolare, non sono stati influenzati dalla dieta e, pertanto, non consentono di confermare l’ipotesi di un maggiore sviluppo scheletrico indotto dalla dieta con crusca avanzata precedentemente per spiegare la maggiore incidenza della testa (Tabelle 4 e 5). Per quanto riguarda l’effetto del sesso, la coscia degli agnelli maschi è risultata più magra e con una maggiore percentuale di osso, quest’ultima in linea con la maggiore incidenza dell’altro componente scheletrico considerato, ovvero la testa (Tabella 4), ma che, comunque, non ha dato luogo a variazioni del rapporto muscolo:osso.

Come le caratteristiche delle carcasse, anche i parametri della qualità fisica della carne del LD hanno maggiormente risentito dell’effetto del piano produttivo piuttosto

che degli altri fattori considerati (Tabelle 9 e 10). Innanzitutto, la carne delle carcasse più leggere degli agnelli macellati a 90 d d'età ha fatto registrare un maggiore pH a 24 h rispetto alla carne a 120 d, che potrebbe indicare una minore acidificazione *post mortem*, possibile conseguenza della condizione di stress pre-macellazione dovuto al digiuno alimentare ed al trasporto e a cui i soggetti più giovani mostrano generalmente una maggiore suscettibilità. La carne degli agnelli di 90 d, meno adiposa, ha pure fatto registrare maggiori perdite di succhi allo scongelamento e alla cottura, sebbene queste ultime ad un livello non significativo, che hanno contribuito ad elevare le perdite totali, significativamente superiori rispetto a quelle della carne degli agnelli razionati. Le maggiori perdite di succhi e la minore adiposità hanno favorito l'aumento dello sforzo al taglio, e quindi la minore tenerezza della carne delle carcasse più leggere di 90 d, soprattutto nel confronto con le carcasse razionate. Differenze di colore, sia della carne sia del grasso, sono emerse sempre tra le carcasse di 90 d e quelle di 120 d. Nel complesso, la carne dei soggetti più giovani è risultata meno luminosa ma di colore rosa più chiaro, come indicano rispettivamente i minori valori di luminosità (L^*), dell'indice del rosso (a^*) e del croma. Al contrario, il grasso delle carcasse più leggere è risultato meno luminoso e più intensamente rosato, come esprimono il minore valore di luminosità (L^*) e quelli maggiori degli indici del rosso (a^*), del giallo (b^*) e del croma. Il diverso livello alimentare cui sono stati sottoposti gli agnelli di 120 d non ha invece avuto alcun effetto sui parametri qualitativi della carne. La dieta ha solo significativamente influenzato la luminosità del grasso, maggiore con la crusca, possibilmente per effetto del trasferimento di pigmenti carotenoidi contenuti nella crusca di frumento che, essendo liposolubili, si accumulano preferibilmente nel grasso. Non è emersa, invece, alcuna interazione significata PP*D, mentre il sesso ha solo tendenzialmente influenzato la luminosità ed il croma del grasso, rispettivamente superiori e inferiori nelle carcasse di agnelli di sesso femminile.

I risultati ottenuti con gli agnelli a 120 d confermano le conclusioni di altri autori (Santos-Silva e Portugal, 2001; Santos Silva et al. 2002) secondo i quali in sistemi confinati è possibile ottenere carcasse più pesanti senza che si manifestino effetti negativi sulla qualità della carcassa e della carne, ma che anzi un adeguato aumento della copertura adiposa assicuri una maggiore protezione della carne durante la conservazione ed il trasporto.

Anche Zygoiannis et al (1999) ha osservato come modulando l'alimentazione post-svezzamento degli agnelli delle razze da latte è possibile produrre, anche in sistemi confinati, carcasse più pesanti di quelle dei tradizionali agnelli da latte, con un miglioramento della qualità della carcassa e della carne, legate soprattutto all'aumento del livello di adiposità, ben apprezzate dai consumatori (Arsenos et al., 2002).

Le Tabelle 11 e 12 riportano la composizione chimica, il contenuto in polifenoli totali e la capacità antiossidante della carne del LD. La composizione centesimale ha risentito dell'influenza della dieta, ma non di quella del piano produttivo. Il mangime contenente crusca ha, infatti, determinato la riduzione del contenuto lipidico della carne, a livello di tendenza nel caso in cui il grasso è stato espresso sulla SS, a cui ha fatto fronte un significativo aumento del tenore proteico. La tendenza dell'interazione PP*D per il tenore proteico della carne tal quale indica come tale aumento delle proteine per effetto della dieta con crusca abbia riguardato la carne degli agnelli macellati a 120 d. Il sesso degli agnelli ha, invece, fortemente influenzato la composizione della carne, dovuta essenzialmente alla maggiore infiltrazione adiposa della carne delle femmine che, di conseguenza, è risultata più grassa, meno proteica (sulla SS) e meno acquosa.

Il contenuto in polifenoli totali e la capacità antiossidante, rilevati esclusivamente sulla carne degli agnelli maschi, sono stati influenzati sia dal sistema produttivo e dalla dieta, sia dalla loro interazione; la significatività dell'interazione mette in evidenza come la maggiore presenza di polifenoli nella carne, ed il conseguente miglioramento delle sue proprietà antiossidanti, sia stato favorito dalla dieta con il 20 % di crusca esclusivamente per gli agnelli di 120 d, indipendentemente dal livello nutritivo con cui sono stati alimentati. Possibilmente, gli agnelli di maggiore età sono stati favoriti dalle maggiori quantità di crusca assunte, anche se non è da escludere l'effetto legato ad un maggiore accumulo delle sostanze polifenoliche nei tessuti. Inoltre, il contenuto in polifenoli totali e la capacità antiossidante sono risultati fortemente correlati tra loro ($r = 0,64$; $P < 0,0001$), ed entrambi significativamente e negativamente correlati al tenore lipidico della carne del LD (Tabella 13). Pertanto, l'inclusione della crusca di grano duro nella dieta ha vantaggiosamente contribuito ad aumentare il contenuto in composti fenolici e la capacità antiossidante della carne degli agnelli, aspetto che fornisce ulteriori conferme del fatto che i polifenoli assunti con la dieta si possano trasferire al muscolo, come già suggerito da Monino et al. (2008) che hanno rilevato un'elevata

presenza di polifenoli nella carne di agnelli che venivano allattati dalle madri alimentate con estratto di rosmarino, e possano arricchire la carne di composti bioattivi in grado di riflettersi positivamente sulle proprietà organolettiche e salutistiche della carne.

Ai test triangolari, i degustatori, basandosi sulle caratteristiche sensoriali complessive, sono stati in grado di discriminare la carne cotta di agnello per effetto della dieta senza o con crusca (CGD0 vs CGD20) e del livello alimentare razionato o a volontà (120DR vs 120DV), seppure le differenze siano state percepite sempre in maniera del tutto moderata. In particolare, i degustatori hanno significativamente distinto l'effetto della dieta, e quindi della presenza della crusca, sia nella carne degli agnelli di 90 d sia in quella degli agnelli razionati di 120 d. L'effetto del livello alimentare, razionato o a volontà, è stato invece percepito ad un livello significativo solo per la carne degli agnelli alimentati con il mangime privo di crusca.

6.5. Conclusioni

Quanto emerso nella prova induce senz'altro ad affermare come sia possibile produrre carne ovina con maggiore efficienza economica aumentando l'età ed il peso di macellazione degli agnelli delle razze da latte, puntando all'ottenimento di carcasse di 12-15 kg, più pesanti di quelle degli agnelli da latte comunemente commercializzate, e di carne di migliore qualità con riguardo alla maggiore tenerezza, alla maggiore ritenzione idrica e ad un moderato aumento del contenuto in grasso.

I risultati dimostrano anche come la crusca di grano duro, derivato dell'industria molitoria, possa essere proficuamente inserita nella formulazione di mangimi destinati all'alimentazione degli agnelli, con vantaggi in termini economici, ambientali e nutrizionali; la crusca, infatti, gode di facile reperibilità locale ed il suo uso consente di smaltire un sottoprodotto che, in quanto tale, non entra in competizione con l'alimentazione umana e contribuisce a ridurre il costo della razione, senza interferire negativamente sullo stato di benessere degli animali, sulle loro prestazioni produttive o sulla qualità complessiva dei loro prodotti, ma contribuendo anzi a migliorarne le proprietà antiossidanti.

Con riguardo al più conveniente ed efficace regime alimentare da adottare per ottenere un contenimento dei costi, una favorevole conversione alimentare ed una

apprezzabile qualità della carcassa e della carne, soprattutto per quanto riguarda il livello di adiposità, i risultati della prova consentono di formulare alcune considerazioni conclusive.

Innanzitutto, nella prima fase di crescita degli agnelli, dai 45 ai 90 d d'età, in cui lo sviluppo muscolare è più rapido e la deposizione adiposa è contenuta, l'inclusione nel mangime del 20% di una fonte alimentare meno costosa ed altamente fibrosa come la crusca non ha comportato alcuna riduzione delle prestazioni di crescita e del peso delle carcasse, che si è attestato in media sui 12,5 kg, né ha determinato un aumento dell'ingestione e della conversione alimentare degli agnelli o un peggioramento della qualità delle carcasse, valutata in base alla griglia di classificazione comunitaria, e della qualità fisica della carne, ma non ha neanche vantaggiosamente contribuito a ridurre i costi di alimentazione per la produzione di carne ovina.

L'aumento di un mese dell'età di macellazione, da 90 a 120 d, ha consentito nel complesso di produrre carcasse di 14,2 kg, quindi più pesanti di 1,7 kg, nel caso in cui si sia adottato il razionamento alimentare pari al 75% del consumo a volontà, e di 15,2 kg, più pesanti di 2,7 kg, nel caso dell'alimentazione a volontà con cui si è anche avuta una maggiore deposizione adiposa.

Tuttavia, in questa seconda fase di allevamento degli agnelli, dai 90 ai 120 d d'età, quando la loro tendenza adipogenetica è maggiore, la somministrazione del mangime con il 20% di crusca associata al razionamento della dieta ha determinato un marcato peggioramento del ritmo di crescita e della conversione alimentare, ha ridotto la resa alla macellazione, ha abbassato di circa 1 kg il peso medio delle carcasse, seppure a livello non significativo, e peggiorato la qualità delle carcasse che, classificate in base alla griglia comunitaria, sono ricadute in maggior misura nella combinazione corrispondente ai minori livelli di muscolosità e adiposità (O2). Non si è registrata, invece, alcuna variazione della qualità fisica della carne.

Di contro, intervenendo con l'apporto di crusca associata alla somministrazione a volontà della dieta, come nella fase precedente da 45 a 90 d, si sono ottenuti risultati analoghi, in termini di ingestione alimentare, accrescimento ponderale e peso della carcassa, a quelli registrati per gli agnelli che hanno ricevuto la dieta senza crusca sia a volontà sia razionata. In questo caso, la scelta dell'una o dell'altra strategia alimentare per il controllo dei costi dipende se un maggiore risparmio si ottenga dal 30% circa di

riduzione dei consumi di fieno e concentrato, o dalla sostituzione del 20% delle granelle del mangime con una fonte meno costosa come la crusca di grano duro.

In merito alle caratteristiche fisiche della carne, queste non hanno subito gli effetti dei trattamenti alimentari, e le uniche differenze sono emerse per effetto dell'età alla macellazione. La carne degli agnelli più giovani, infatti, ha mostrato maggiori perdite di succhi, particolarmente allo scongelamento, è risultata meno tenera, di colore rosso meno intenso e con un grasso più rosato.

Di contro, la dieta a base di crusca ha contribuito a ridurre il tenore lipidico della carne del LD, cui ha corrisposto un aumento del tenore proteico, particolarmente negli agnelli di 120 d d'età. L'assunzione di crusca con la dieta da parte degli agnelli di 120 d ha anche favorito la presenza di polifenoli nella carne che ha, quindi, acquisito una maggiore capacità antiossidante in grado di riflettersi positivamente sulle sue proprietà organolettiche e salutistiche. Questo risultato, attribuibile al trasferimento nelle carni degli acidi fenolici, e del ferulico in particolare, assume certamente un importante valore conoscitivo che merita di essere confermato in ulteriori indagini che possano altresì evidenziarne i riflessi sulla stabilità ossidativa del prodotto durante la conservazione ed i benefici per la salute dei consumatori.

All'analisi sensoriale è stato possibile percepire, seppure moderatamente, differenze della carne dovute sia alla dieta (CGD0 vs CGD20) sia al livello alimentare (120DR vs 120DV).

Infine, si è confermato come, indipendentemente dal piano produttivo e dalla dieta, le carcasse di agnelli di sesso femminile presentino minori rese alla macellazione, una maggiore adiposità ma anche una minore incidenza delle parti scheletriche che ne aumenta lievemente il rapporto muscolo:osso.

Tabella 1. Formulazione dei mangimi utilizzati (% TQ) e composizione chimica (% SS), capacità antiossidante e costo degli alimenti semplici e dei mangimi.

	Alimenti semplici				Mangimi	
	Fieno di erba medica	Favino	Orzo	Crusca	CGD0	CGD20
Favino					66	58
Orzo					34	22
Crusca						20
Sostanza secca	90,4	87,8	90,6	87,9	88,7	88,4
Estratto etereo	1,67	1,55	2,11	5,64	1,77	2,38
Proteina grezza	9,16	29,2	10,0	16,9	23,2	22,1
Ceneri	11,5	3,80	2,98	5,06	3,96	3,85
Carboidrati non strutturali	13,1	46,6	64,0	35,5	52,4	48,0
NDF	64,6	18,4	20,4	36,9	18,7	23,6
ADF	52,7	13,1	10,6	13,1	12,3	12,2
ADL	9,49	0,91	1,49	3,63	1,18	1,69
Energia netta carne, Mcal/kg SS	0,79	1,99	1,98	1,80	1,97	1,94
Acidi fenolici totali, µg/g SS	-	36,0	1273	2345	503	1028
Acido ferulico, µg/g SS	-	16,78	799	1954	340	782
Polifenoli totali (g GAE/kg SS)	3,12	2,51	8,27	12,60	4,40	5,91
Capacità antiossidante TEAC (mmol trolox/kg SS)	17,0	17,5	70,6	87,5	71,1	96,6
Costo €/kg	0,13	0,20	0,40	0,10	0,33	0,30

CGD0 e CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro.

GAE = acido gallico equivalente.

TEAC = Trolox equivalent antioxidant capacity.

Tabella 2. Effetto della dieta e del sesso sulle prestazioni in vita degli agnelli da 45 a 90 d d'età.

		Dieta		Sesso		Significatività (P<)		DSR
		CGD0	CGD20	Femmine	Maschi	Dieta	Sesso	
Agnelli, n.		34	34	30	38			
Età iniziale, d		44,4	43,8	44,8	43,3	ns	ns	5,77
Età finale, d		89,4	88,8	89,8	88,3	ns	ns	5,77
Peso vivo iniziale, kg		16,3	16,2	16,6	15,9	ns	ns	2,73
Peso vivo finale, kg		23,8	23,7	24,1	23,4	ns	ns	3,71
IP 45-90 d, g/d		168	166	166,4	167,7	ns	ns	38,0
<i>Ingestione</i>	SS	206	244			ns		75,4
<i>FIENO</i>	EE	3,67	4,34			ns		1,34
<i>g/d per capo</i>	PG	18,3	21,6			ns		6,69
	CNS	27,0	32,0			ns		9,88
	NDF	134,1	158,6			ns		49,0
	ADL	19,4	23,0			ns		7,11
	ENC, Mcal/d	0,17	0,20			ns		0,061
<i>Ingestione</i>	SS	627	710			ns		304
<i>MANGIME</i>	EE	11,1	17,0			**		4,46
<i>g/d per capo</i>	PG	150	156			ns		56,5
	CNS	330	340			ns		125
	NDF	113	169			**		51,7
	ADL	8,14	12,8			*		3,91
	ENC, Mcal/d	1,23	1,36			ns		0,477
<i>Ingestione</i>	SS	833	954			ns		247
<i>DIETA</i>	EE	14,8	21,3			**		5,39
<i>g/d per capo</i>	PG	168	177			ns		61,2
	CNS	357	372			ns		132
	NDF	247	327			*		94,4
	ADL	27,6	35,8			*		9,87
	ENC, Mcal/d	1,40	1,56			ns		0,522
Acidi fenolici totali, mg/d		316	730			***		201
Acido ferulico, mg/d		213	555			***		150
Mangime, % dieta		73,7	74,6			ns		5,94
ICa concentrato 45-90 d		4,13	4,44	4,15	4,41	ns	ns	1,52
ICa totale 45-90 d		5,48	5,96	5,54	5,90	ns	ns	2,03

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. DSR = deviazione standard residua;

* P≤0.05; ** P≤0.01; *** P≤0.001; ns = non significativo. IP = incremento ponderale.

CNS = carboidrati non strutturali. ENC = energia netta carne. ICa = indice di conversione alimentare.

Tabella 3. Effetto del livello nutritivo (LN), della dieta (D) e del sesso sulle prestazioni in vita degli agnelli da 45 a 120 d d'età.

	LN razionato		LN a volontà		Sesso		Significatività (P<)			DSR	
	CGD0	CGD20	CGD0	CGD20	Femmine	Maschi	LN	D	LN*D	Sesso	
Agnelli, n.	10	10	10	9	10	19					
Età iniziale, d	44,9	44,6	44,9	45,4	45,4	44,5	ns	ns	ns	ns	4,99
Età intermedia, d	89,9	89,6	89,9	90,4	90,4	89,5	ns	ns	ns	ns	4,99
Età finale, d	120	120	120	120	120	120	ns	ns	ns	ns	4,99
Peso vivo iniziale, kg	16,8	16,3	16,1	15,9	16,2	16,3	ns	ns	ns	ns	2,56
Peso vivo a 90 d, kg	23,9	23,4	23,6	24,2	23,6	24,0	ns	ns	ns	ns	3,67
Peso vivo finale (PVF), kg	29,0	26,6	29,1	29,9	28,0	29,3	ns	ns	ns	ns	3,92
IP 45-90 d, g/d	157	158	166	184	163	169	ns	ns	ns	ns	42,2
IP 90-120 d, g/d	170 ABa	105 Bb	185 Aa	190 Aa	146	179	**	+	*	+	50,0
IP 45-120 d, g/d	162 ab	137 b	173 ab	186 a	156	173	**	ns	+	ns	32,7
<i>Ingestione</i> SS	235	259	409	371			***	ns	ns		120
<i>FIENO</i> EE	3,6	4,02	6,34	5,75			***	ns	ns		1,87
<i>g/d per capo</i> PG	22,2	24,5	38,6	35,0			***	ns	ns		11,4
CNS	30,9	34,1	53,8	48,8			***	ns	ns		15,9
NDF	151	166	262	238			***	ns	ns		77,3
ADL	22,5	24,8	39,1	35,4			***	ns	ns		11,5
ENC, Mcal/d	0,18	0,20	0,31	0,28			***	ns	ns		0,092
<i>Ingestione</i> SS	754	765	1032	1055			***	ns	ns		182
<i>MANGIME</i> EE	13,7	16,8	18,8	23,85			***	*	ns		5,92
<i>g/d per capo</i> PG	170	169	133	233			***	ns	ns		38,3
CNS	394	370	539	510			***	ns	ns		88,9
NDF	145	181	199	250			***	***	ns		43,7
ADL	9,12	11,2	12,8	15,7			**	*	ns		4,42
ENC, Mcal/d	1,48	1,50	2,02	2,07			***	ns	ns		0,35
<i>Ingestione</i> SS	989	1024	1441	1426			***	ns	ns		281
<i>DIETA</i> EE	17,3	20,8	25,1	29,2			***	+	ns		4,41
<i>g/d per capo</i> PG	192	194	271	268			***	ns	ns		46,9
CNS	425	404	593	558			***	ns	ns		101
NDF	296	347	461	488			***	ns	ns		113
ADL	31,6	36,0	51,8	51,1			***	ns	ns		15,2
ENC, Mcal/d	1,66	1,70	2,34	2,35			***	ns	ns		0,42
Acidi fenolici totali, mg/d	379 C	786 B	520 C	1084 A			***	***	+		154
Acido ferulico, mg/d	353 Cc	594 Bb	484 BCb	820 Aa			***	***	*		116
Mangime 90-120 d, % dieta	76,8	75,4	72,0	74,3			+	ns	ns		5,63
ICa concentrato 90-120 d	5,69	7,94	5,86	5,78	7,06	5,57	ns	ns	ns	*	2,24
ICa totale 90-120 d	7,46	10,6	8,18	7,80	9,51	7,53	ns	ns	+	*	2,98
ICa concentrato 45-120 d	4,52	5,51	4,77	4,66	5,03	4,69	ns	ns	ns	ns	1,18
ICa totale 45-120 d	5,97	7,39	6,51	6,27	6,77	6,30	ns	ns	ns	ns	1,58

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro.

DSR = deviazione standard residua; + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo. A, B, C: P≤ 0,01; a, b: P≤ 0,05.

IP = incremento ponderale. CNS = carboidrati non strutturali. ENC = energia netta carne. ICa = indice di conversione alimentare.

Tabella 4. Effetto del piano produttivo, della dieta e del sesso sulla resa alla macellazione e sulle caratteristiche della carcassa degli agnelli.

	Piano produttivo (PP)			Dieta (D)		Sesso		Significatività (P<)				DSR
	90DV	120DR	120DV	CGD0	CGD20	Femmine	Maschi	PP	D	PP*D	Sesso	
Agnelli, n.	29	20	19	34	34	30	38					
Peso vivo finale, kg	23,7 B	27,8 A	29,5 A	27,3	26,6	27,0	26,9	***	ns	ns	ns	4,01
Peso vivo a digiuno (PVD), kg	22,9 B	26,3 A	27,9 A	25,9	25,5	25,5	25,9	***	ns	ns	ns	3,63
Peso vivo netto, kg	20,1 B	23,1 A	24,8 A	22,9	22,4	22,6	22,8	***	ns	ns	ns	3,17
Carcassa a caldo, kg	12,8 Bb	14,6 ABa	15,6 Aa	14,7	14,0	14,3	14,4	***	ns	ns	ns	2,16
Carcassa a 24 h (CRC24), kg	12,5 Bb	14,2 ABa	15,2 Aa	14,3	13,7	14,0	14,0	***	ns	ns	ns	2,09
Calo di refrigerazione, %	2,19 b	2,88 a	2,24 b	2,66	2,22	2,28	2,60	*	+	ns	ns	0,98
Resa carcassa a caldo, %	55,7	55,6	55,8	56,6	54,8	56,1	55,2	ns	***	**	+	1,82
Resa netta a caldo, %	63,3	63,3	62,7	64,0	62,2	63,3	63,0	ns	***	*	ns	1,82
Resa carcassa a 24 h, %	54,5	54,0	54,5	55,1	53,6	54,9	53,8	ns	**	*	*	1,76
Resa netta a 24 h, %	61,9	61,5	61,3	62,3	60,8	61,8	61,3	ns	**	*	ns	1,75
Visceri vuoti, % PVD	22,7	23,7	22,5	22,7	23,3	22,6	23,4	+	ns	ns	ns	1,82
Contenuto gastrointestinale, % PVD	12,0	12,2	11,0	11,5	12,0	11,3	12,2	+	ns	ns	*	1,55
Testa, % CRC24	8,11 a	7,98 ab	7,57 b	7,72	8,06	7,64	8,14	*	*	ns	**	0,62
Organi interni, % CRC24	9,84	10,4	10,0	10,2	9,97	10,2	10,1	+	ns	ns	ns	0,80
Mezzena dx (MDX), kg	5,05 Bb	5,74 ABa	6,16 Aa	5,81	5,50	5,68	5,62	***	ns	ns	ns	0,93
Mezzena dx, % CRC 24	40,4	40,3	40,4	40,6	40,2	40,6	40,1	ns	ns	ns	ns	1,34
Grasso perirenale e pelvico, g	111 B	133 AB	165 A	141	132	160	113	**	ns	ns	***	45,3
Grasso perirenale e pelvico, % MDX	2,15 b	2,27 ab	2,68 a	2,39	2,35	2,78	1,96	*	ns	ns	***	0,68
Costo alimentare €/kg IP	1,34 b	1,63 a	1,54 ab	1,50	1,51	1,54	1,47	*	ns	ns	ns	0,32
Costo alimentare €/kg CRC24	0,83 B	1,26 A	1,37 A	1,14	1,16	1,15	1,15	***	ns	ns	ns	0,17
Utile kg PV, €	49,8	52,6	54,6	53,0	51,7	52,0	52,7	ns	ns	ns	ns	9,14
Utile kg CRC24, €	52,4	53,5	55,6	55,2	52,5	53,8	53,8	ns	ns	ns	ns	10,5

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d. CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. DSR = deviazione standard residua; + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo. A, B: P≤ 0,01; a, b: P≤ 0,05.

Tabella 5. Resa alla macellazione e caratteristiche della carcassa degli agnelli per effetto dell'interazione tra piano produttivo e dieta.

Piano produttivo (PP) Dieta (D)	90DV		120DR		120DV		Significatività (P<)				DSR
	CGD0	CGD20	CGD0	CGD20	CGD0	CGD20	PP	D	PP*D	Sesso	
Agnelli, n.	14	15	10	10	10	9					
Peso vivo finale, kg	23,9	23,5	29,0	26,6	29,1	29,8	***	ns	ns	ns	4,01
Peso vivo a digiuno (PVD), kg	23,0	22,7	26,4	26,2	28,3	27,6	***	ns	ns	ns	3,63
Peso vivo netto, kg	20,3	19,9	23,4	22,9	25,2	24,5	***	ns	ns	ns	3,17
Carcassa a caldo, kg	12,9	12,6	15,2	14,1	16,0	15,2	***	ns	ns	ns	2,16
Carcassa a 24 h (CRC24), kg	12,6	12,4	14,7	13,7	15,6	14,9	***	ns	ns	ns	2,09
Calo di refrigerazione, %	2,32	2,06	3,27	2,49	2,37	2,12	*	+	ns	ns	0,98
Resa carcassa a caldo, %	55,9 ABab	55,5 ABbc	57,5 Aa	53,6 Bc	56,4 ABab	55,2 ABbc	ns	***	**	+	1,82
Resa netta a caldo, %	63,4 AB	63,2 AB	65,1 A	61,5 B	63,4 AB	62,0 B	ns	***	+	ns	1,82
Resa carcassa a 24 h, %	54,6 ABa	54,4 ABab	55,7 Aa	52,29 Bb	55,0 ABa	54,0 ABab	ns	**	*	*	1,76
Resa netta a 24 h, %	62,0 AB	61,9 AB	63,0 A	60,0 B	61,9 AB	60,7 AB	ns	**	*	ns	1,75
Visceri vuoti, % PVD	22,4	23,1	23,1	24,3	22,7	22,4	+	ns	ns	ns	1,82
Contenuto gastrointestinale, % PVD	11,8	12,2	11,6	12,8	11,1	11,0	+	ns	ns	*	1,55
Testa, % CRC24	8,08	8,15	7,67	8,29	7,40	7,75	*	*	ns	**	0,62
Organi interni, % CRC24	9,87	9,81	10,7	10,1	10,1	9,99	+	ns	ns	ns	0,80
Mezzena dx (MDX), kg	5,10	4,99	5,93	5,54	6,38	5,95	***	ns	ns	ns	0,93
Mezzena dx, % CRC 24	40,5	40,3	40,4	40,3	40,8	40,0	ns	ns	ns	ns	1,34
Grasso perirenale e pelvico, g	111	111	143	123	169	160	**	ns	ns	***	45,3
Grasso perirenale e pelvico, % MDX	2,13	2,17	2,37	2,18	2,66	2,70	*	ns	ns	***	0,68
Costo alimentare €/kg IP	1,29	1,39	1,59	1,67	1,61	1,47	*	ns	ns	ns	0,32
Costo alimentare €/kg CRC24	0,81	0,84	1,24	1,27	1,38	1,37	***	ns	ns	ns	0,17
Utile kg PV, €	49,8	49,8	54,6	50,6	54,6	54,5	ns	ns	ns	ns	9,14
Utile kg CRC24, €	53,0	51,7	55,6	51,4	56,9	53,0	ns	ns	ns	ns	10,5

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d.

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro.

DSR = deviazione standard residua; + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo. A, B: P≤ 0,01; a, b, c: P≤ 0,05.

Tabella 6. Effetto del piano produttivo e della dieta sulla classificazione SEUROP della carcassa degli agnelli (F= femmine; M= maschi)

Allegato III Reg. CEE 2173/92 Carcasse ≤ 13 kg Categoria C 10,1-13 kg		Allegato I Reg. CEE 2173/92 Carcasse > 13 kg					
Qualità	90DV CGD0 CGD20	Sviluppo muscolare	Tenore in grasso	120DR CGD0 CGD20	120DV CGD0 CGD20		
1 carne rosa e tenore in grasso 2 (scarso)	0 2 M	R buono	2 scarso	3 = 2 F/1 M	0	3 = 1 F/2 M	2 = 1 F/1 M
2 carne rosa e tenore in grasso 1 (molto scarso)	5 M 4 M	R buono	3 mediamente importante	2 M	2 F	4 = 2 F/2 M	4 = 2 F/2 M
2 carne altro colore e tenore in grasso 1 (molto scarso)	6 5 = 3 F/3 M = 2 F/3 M	O abbastanza buono	2 scarso	3 = 1 F/2 M	7 = 2 F/5 M	1 F	3 = 2 F/1 M
2 carne altro colore e tenore in grasso 2 (scarso)	3 3 F = 2 F/1 M	O abbastanza buono	3 mediamente importante	2 F	0	1 F	0

Tabella 7. Effetto del piano produttivo, della dieta e del sesso sui parametri di sezionatura tissutale della coscia degli agnelli.

	Piano Produttivo (PP)			Dieta (D)		Sesso		Significatività (P<)				DSR
	90DV	120DR	120DV	CGD0	CGD20	Femmine	Maschi	PP	D	PP*D	Sesso	
Coscia dx, kg	1,43B	1,92 A	2,02 A	1,83	1,75	1,81	1,77	***	ns	ns	ns	0,28
Coscia, % MDXa	28,4B	33,6 A	32,8 A	31,4	31,7	31,8	31,4	***	ns	ns	ns	1,71
Carne, % su coscia	66,9 A	65,3 A	62,6 B	65,1	64,7	65,0	64,8	***	ns	ns	ns	2,63
Grasso, % su coscia	5,63 C	8,62 B	11,28 A	8,45	8,57	9,12	7,90	***	ns	ns	*	2,34
Osso, % su coscia	27,5	26,13	26,11	26,5	26,7	25,9	27,3	ns	ns	ns	*	2,53
Rapporto muscolo:osso della coscia	2,45	2,54	2,42	2,49	2,44	2,53	2,41	ns	ns	ns	ns	0,30

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d.

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. MDX = mezzena destra.

DSR = deviazione standard residua; * P≤0.05; *** P≤0.001; ns = non significativo. A, B, C: P≤ 0,01.

Tabella 8. Parametri di sezionatura tissutale della coscia degli agnelli per effetto dell'interazione tra piano produttivo e dieta.

Piano produttivo (PP)	90DV		120DR		120DV		Significatività (P<)				DSR
	CGD0	CGD20	CGD0	CGD20	CGD0	CGD20	PP	D	PP*D	Sesso	
Coscia dx, kg	1,44	1,42	2,00	1,85	2,06	1,98	***	ns	ns	ns	0,28
Coscia, % MDXa	28,2	28,5	33,7	33,4	32,4	33,3	***	ns	ns	ns	1,71
Carne, % su coscia	66,4	67,3	65,7	64,8	63,1	62,1	***	ns	ns	ns	2,63
Grasso, % su coscia	5,82	5,45	8,80	8,43	10,74	11,83	***	ns	ns	*	2,34
Osso, % su coscia	27,8	27,3	25,5	26,8	26,1	26,1	ns	ns	ns	*	2,53
Rapporto muscolo:osso della coscia	2,42	2,48	2,61	2,46	2,45	2,39	ns	ns	ns	ns	0,30

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d.

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. MDX = mezzena destra.

DSR = deviazione standard residua; * P≤0.05; *** P≤0.001; ns = non significativo.

Tabella 9. Effetto del piano produttivo, della dieta e del sesso sulle caratteristiche fisiche e della carne del *Longissimus dorsi* (LD) e colore del grasso perirenale.

	Piano Produttivo (PP)			Dieta (D)		Sesso		Significatività (P<)				DSR
	90DV	120DR	120DV	CGD0	CGD20	Femmine	Maschi	PP	D	PP*D	Sesso	
pH LD a 24 h	6,01 A	5,71 B	5,68 B	5,80	5,80	5,83	5,77	***	ns	ns	ns	0,097
Perdite allo scongelamento, %	7,95 Aa	5,52 Bb	5,96 ABb	6,99	5,96	6,37	6,59	**	ns	ns	ns	2,51
Perdite alla cottura, %	15,71	11,4	13,4	14,0	13,0	12,9	14,1	ns	ns	ns	ns	7,84
Perdite totali, %	22,4 a	16,3 b	18,6 ab	20,1	18,1	18,4	19,7	*	ns	ns	ns	7,94
Sforzo al taglio dopo cottura, kg/cm ²	4,09 A	2,65 B	3,38 AB	3,38	3,37	3,27	3,48	***	ns	ns	ns	1,02
Luminosità L* LD	40,2 b	43,5a	42,0 ab	41,2	42,5	41,2	42,6	*	ns	ns	ns	4,38
Indice del rosso a* LD	17,0 B	18,5 AB	19,5 A	18,8	17,8	18,4	18,2	**	ns	ns	ns	2,59
Indice del giallo b* LD	4,48	5,17	5,68	5,42	4,80	5,01	5,21	+	ns	ns	ns	1,77
Croma LD	17,6 B	19,2 AB	20,3 A	19,6	18,5	19,1	19,0	**	ns	ns	ns	2,78
Tinta LD	14,5	15,4	16,15	16,0	14,7	15,1	15,6	ns	ns	ns	ns	4,70
Luminosità L* grasso	73,4 B	77,7 A	77,4 A	75,3	76,9	76,7	75,6	***	*	ns	+	2,42
Indice del rosso a* grasso	10,6 A	8,02 B	7,00 B	8,71	8,35	8,14	8,93	***	ns	ns	ns	2,27
Indice del giallo b* grasso	11,0 A	9,62 AB	8,95 B	10,1	9,63	9,47	10,3	**	ns	ns	ns	2,08
Croma grasso	15,4 A	12,6 B	11,6 B	13,5	12,9	12,7	13,7	***	ns	ns	+	2,22
Tinta grasso	46,3	50,3	51,8	49,5	49,4	49,7	49,2	ns	ns	ns	ns	8,99

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d.

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. MDX = mezzena destra.

DSR = deviazione standard residua; + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo. A, B: P≤ 0,01; a, b: P≤ 0,05.

Tabella 10. Caratteristiche fisiche della carne del *Longissimus dorsi* (LD) e colore del grasso perirenale per effetto dell'interazione tra piano produttivo e dieta.

Piano produttivo (PP) Dieta (D)	90DV		120DR		120DV		Significatività (P<)				DSR
	CGD0	CGD20	CGD0	CGD20	CGD0	CGD20	PP	D	PP*D	Sesso	
pH LD a 24 h	6,02	6,01	5,7	5,72	5,7	5,66	***	ns	ns	ns	0,097
Perdite allo scongelamento, %	8,11	7,79	6,01	5,03	6,85	5,07	**	ns	ns	ns	2,51
Perdite alla cottura, %	15,0	16,4	12,8	10,1	14,3	12,4	ns	ns	ns	ns	7,84
Perdite totali, %	21,9	22,9	18,0	14,5	20,3	16,8	*	ns	ns	ns	7,94
Sforzo al taglio dopo cottura, kg/cm ²	4,15	4,04	2,48	2,82	3,52	3,23	***	ns	ns	ns	1,02
Luminosità L* LD	40,0	40,4	41,7	45,4	42,1	41,8	*	ns	ns	ns	4,38
Indice del rosso a* LD	16,9	17,0	19,9	17,1	19,7	19,3	**	ns	ns	ns	2,59
Indice del giallo b* LD	4,34	4,62	6,11	4,22	5,82	5,55	+	ns	ns	ns	1,77
Croma LD	17,5	17,7	20,8	17,6	20,6	20,1	**	ns	ns	ns	2,78
Tinta LD	14,3	14,7	17,1	13,7	16,5	15,8	ns	ns	ns	ns	4,70
Luminosità L* grasso	72,1	74,6	76,6	78,7	77,2	77,6	***	*	ns	+	2,42
Indice del rosso a* grasso	10,8	10,3	8,35	7,70	6,97	7,02	***	ns	ns	ns	2,27
Indice del giallo b* grasso	11,0	11,0	10,3	8,97	8,98	8,93	**	ns	ns	ns	2,08
Croma grasso	15,7	15,2	13,4	11,9	11,6	11,6	***	ns	ns	+	2,22
Tinta grasso	45,7	46,9	51,0	49,5	51,8	51,9	ns	ns	ns	ns	8,99

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d.

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. MDX = mezzena destra.

DSR = deviazione standard residua; + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo.

Tabella 11. Effetto del piano produttivo, della dieta e del sesso su composizione chimica, contenuto in polifenoli e capacità antiossidante della carne del *Longissimus dorsi* (LD).

	Piano Produttivo (PP)			Dieta (D)		Sesso		Significatività (P<)				DSR
	90DV	120DR	120DV	CGD0	CGD20	Femmine	Maschi	PP	D	PP*D	Sesso	
Sostanza secca (SS)	26,2	25,9	25,9	26,0	25,9	27,0	24,9	ns	ns	ns	***	2,00
Umidità, %	73,8	74,1	74,2	74,0	74,1	73,0	75,1	ns	ns	ns	***	2,00
Lipidi, %	7,02	6,71	6,68	7,24	6,37	8,1	5,5	ns	ns	ns	***	2,62
Proteine, %	18,2	18,1	18,1	17,8	18,5	17,9	18,4	ns	*	+	ns	1,33
Ceneri, %	1,05	1,03	1,06	1,03	1,06	1,03	1,06	ns	ns	ns	ns	0,088
Lipidi, % SS	26,0	25,4	25,6	27,4	23,9	29,4	21,9	ns	+	ns	***	7,84
Proteine, % SS	70,0	70,6	70,3	68,7	71,9	66,7	73,9	ns	+	ns	***	7,37
Ceneri, % SS	4,04	4	4,12	3,97	4,13	3,85	4,26	ns	ns	ns	**	0,52
¹ Polifenoli totali (g GAE/kg SS)	0,68 B	1,36 A	1,33 A	0,95	1,30			***	**	*		1,02
¹ Capacità antiossidante TEAC (mmol trolox eq./kg SS)	10,3 B	13,9 A	14,3 A	12,2	13,4			***	*	*		5,79

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d. CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. DSR = deviazione standard residua; + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo. A, B: P≤ 0,01. ¹Sugli agnelli maschi (n. 56).

Tabella 12. Composizione chimica, contenuto in polifenoli e capacità antiossidante della carne del *Longissimus dorsi* (LD) per effetto dell'interazione tra piano produttivo e dieta.

Piano produttivo (PP)	90DV		120DR		120DV		Significatività (P<)				DSR
	CGD0		CGD20		CGD0		PP	D	PP*D	Sesso	
Dieta (D)											
Sostanza secca (SS)	26,4	26,1	26,1	25,7	25,7	26,1	ns	ns	ns	***	2,00
Umidità, %	73,6	74,0	73,9	74,3	74,4	74,0	ns	ns	ns	***	2,00
Lipidi, %	7,02	7,02	7,7	5,71	6,99	6,38	ns	ns	ns	***	2,62
Proteine, %	18,3	18,0	17,4	18,9	17,6	18,6	ns	*	+	ns	1,33
Ceneri, %	1,05	1,04	0,99	1,06	1,04	1,07	ns	ns	ns	ns	0,088
Lipidi, % SS	26,0	25,9	29,0	21,8	27,1	24,0	ns	+	ns	***	7,84
Proteine, % SS	70,0	70,0	67,2	74,0	68,8	71,8	ns	+	ns	***	7,37
Ceneri, % SS	4,01	4,07	3,83	4,17	4,08	4,16	ns	ns	ns	**	0,52
¹ Polifenoli totali (g GAE/kg SS)	0,72 Bb	0,64 Bb	1,10 ABb	1,62 Aa	1,02 ABb	1,65 Ba	***	**	*		1,02
¹ Capacità antiossidante TEAC (mmol trolox eq./kg SS)	10,9 BCbc	9,69 Cc	12,8 ABab	14,9 Aa	12,8 ABab	15,7 Aa	***	*	*		5,79

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d. CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro. DSR = deviazione standard residua; + P≤0,10; * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001; ns = non significativo. A, B, C: P≤ 0,01; a, b, c: P≤ 0,05. ¹Sugli agnelli maschi (n. 56).

Tabella 13. Coefficienti di correlazioni relativi al contenuto in polifenoli e capacità antiossidante della carne del *Longissimus dorsi* (LD) degli agnelli maschi (n. 56).

	Peso carcassa		Grasso LD		Polifenoli totali (g GAE/kg SS)	
	R	P<	R	P<	R	P<
Grasso LD	0,29	0,0324				
Polifenoli totali (g GAE/kg SS)	-0,059	0,6681	-0,45	0,0005		
Capacità antiossidante TEAC (mmol trolox eq./kg SS)	0,22	0,1006	-0,52	<0,0001	0,64	<0,0001

Tabella 14. Test triangolare di discriminazione della carne del *Longissimus dorsi* (LD) in funzione del piano produttivo e della dieta

Confronto		Indicazioni corrette		Significatività (P<)	Grado di differenza
Piano Produttivo (PP)	Dieta	n/totale	%		
90DV	CGD0 vs CGD20	CGD20	66,7	*	moderato
120DR	CGD0 vs CGD20	8/12	66,7	*	moderato
120DV	CGD0 vs CGD20	4/12	33,3	ns	alto
Totale	CGD0 vs CGD20	20/36	55/6	**	moderato
120DR vs 120DV	CGD0	10/12	83,3	***	nessuno o lieve
120DR vs 120DV	CGD20	6/12	50,0	ns	moderato
120DR vs 120DV	totale	16/24	52,8	***	nessuno o lieve

90DV, 120DR, 120DV = livello nutritivo a volontà fino a 90 d, razionato fino a 120 d e a volontà fino a 120 d.

CGD0, CGD20 = mangime con 0% e 20% di crusca di grano duro.

* P≤0.05; ** P≤0.01; *** P≤0.001; ns = non significativo.

7. BIBLIOGRAFIA

- Abii J. U., Iji P. A., Umunna N. N., Dim, N.I., 1993. The replacement value of wheat bran for cotton seed cake and maize in diets for sheep. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*. 41, 65-69.
- Acamovic T., Brooker J. D., 2005. Symposium on 'Plants as animal foods: a case of catch 22. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proceedings of the Nutrition Society*. 64, 403–412.
- Aerts R. J, Barry T. N., McNabb W., 1999. Review Paper Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 75, 1–12.
- Akahoshi R., Takahashi Y., 1996. Yoghurt containing Bifidobacterium and process for producing the same. PCT-International Patent Application, WO96/37113A1 (cited from FSTA 1997-08-P0149).
- Ames B. N., Shigenaga M. K., Hagen T. M., 1995. Mitochondrial decay in aging. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1271, 165-170.
- Angelini R.. il grano. 2008. *Coltura & Cultura*. Editore ART Servizi Editoriali S.p.a.. 246-250.
- AOAC, 2000. Official methods of analysis, 17th edition. Association of Official Analytical Chemists International, Gaithersburg, MD.
- Amerine MA, Pangborn RM, Roessler EB, 1965. *Principles of Sensory Evaluation of Food*. Academic Press, New York.
- Arranz F., Calixto S., 2010. Analysis of polyphenols in cereals may be improved performing acidic hydrolysis: A study in wheat flour and wheat bran and cereals of the diet. *Journal of Cereal*. 51, 313-318.
- Arsenos, G., Banos, G., Fortomaris, P., Katsaounis, N., Stamataris, C., Tsaras, L., & Zygoiannis, D., 2002. Eating quality of lamb meat: effects of breed, sex, degree of maturity and nutritional management. *Meat science*. 60, 379-387.
- Arthington J. D., Kunkle W. E., Martin A. M., 2002. Citrus pulp for cattle. *Veterinary Clinics of North America*. 18, 317-326.
- ASPA (1995). Commissione di studio. Metodi di analisi del latte delle principali specie di interesse zootecnico Centro stampa dell'Università degli Studi di Perugia.

- Aurousseau B., 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *Productions Animales*. 15, 67-82.
- Balandrán-Quintana R. R., Mercado-Ruiz N. J., Mendoza-Wilson A. M., 2015. Wheat bran proteins: a Review of Their Uses and Potential. *Food Reviews International*. 31, 279-293.
- Balasundram N., Sundram K., Samman S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. 99, 191–203.
- Baublis, A.J., Lu, C., Clydesdale, F.M., Decker, E.A., 2002. Potential of wheat-based breakfast cereals as a source of dietary antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. 19, 308S–311S.
- Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A., 2002, Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *Journal of Dairy Science*. 85, 2173-2179.
- Beauchemin, K. A., Kreuzer M., O'Mara F., McAllister T. A., 2008: Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48, 21–27.
- Bendich A., 1993. Physiological role of antioxidants in the immune system. *Journal of Dairy Science*. 76, 2789–2794.
- Benamrouche S., Crônier D., Debeire P., Chabbert B., 2002. A chemical and histological study on the effect of (1→4)-β-xylanase treatment on wheat bran. *Journal of Cereal Science*. 36, 253-260.
- Benzie I.F.F., Strain J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as 300 measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. 239, 70- 76.
- Bhatta R., Uyeno Y., Tajima K., Takenaka A., Yabumoto Y., Nonaka I., Enishi O., Kurihara M., 2009. Difference in nature of tannins on in vitro ruminal methane and volatile fatty acid production and on methanogenic archaea and protozoal populations. *Journal of Dairy Science* 92, 5512– 5522.
- Bonanno A., Di Grigoli A., Vargetto D., Tornambe G., Di Miceli G., Giambalvo D., 2007a. Grazing sulla and/or ryegrass forage for 8 or 24 hours daily. Effects on ewes feeding behaviour. Permanent and Temporary Grassland Plant, Environment and Economy. European Grassland Federation. A. De Vlieghe, and L. Carlier, ed. ILVO, Merelbeke, Belgium, 208-211.

- Bonanno A., Tornambè G., Di Grigoli A., Genna V., Bellina V., Di Miceli G., Giambalvo D., 2012. Effect of legume grains as a source of dietary protein on the quality of organic lamb meat. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 92, 2870-2875.
- Bonanno A., Di Grigoli A., Montalbano M., Bellina V., Mazza F., Todaro M., 2013. Effects of diet on casein and fatty acid profiles of milk from goats differing in genotype for α_{s1} -casein synthesis. *European Food Research and Technology*. 237, 951–963.
- Bonanno A., Di Grigoli A., Mazza F., De Pasquale C., Giosuè C., Vitale F., Alabiso M., 2016. Effects of ewes grazing sulla or ryegrass pasture for different daily durations on forage intake, milk production and fatty acid composition of cheese. *The Animal Consortium*. 10, 2074–2082.
- Bonsi B., 2012. Nuovi ingredienti funzionali per l'applicazione in campo alimentare. Tesi di dottorato di ricerca in Biologia cellulare, molecolare e industriale, ciclo XXIV, Università di Bologna.
- Borrelli R. C., Esposito F., Napolitano A., Ritieni A., Fogliano V., 2004. Characterization of new functional ingredient: coffee silver skin. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 52, 1338–1343.
- Bradford G. E., 1999. Contributions of animal agriculture to meeting global human food demand. *Livestock Production Science*. 59, 95–112.
- Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317–333.
- Campas-Ríos M. D. J., Mercado-Ruiz J. N., Valdéz-Covarrubias M. A., Islas-Rubio A. R., Mendoza-Wilson A. M., Balandrán-Quintana R. R., 2012. Hydrolysates from wheat bran albumin as color-adding agents and inhibitors of apple polyphenol oxidase. *Journal of Food Biochemistry*. 36, 470–478.
- Cappelli P., Vannucchi V., 2005. *Chimica degli alimenti. Conservazione e trasformazione*. Zanichelli, Bologna. 588.
- Cassidy E. S., West P. C., Gerber J. S., and Foley J. A., 2013. Redefining agricultural yields: From tonnes to people nourished per hectare. *Environmental Research*. 8, 1–8.
- Castillo C., Hernandez J., Valverde I., Pereira V., Sotillo J., Alonso-Lopez M., Benedito J. L., 2006. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows, *Research in veterinary Science*. 80, 133-139.

- Celi, P., 2011. Oxidative stress in ruminants. *Studies on Veterinary Medicine, Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice 5*. L. Mandelker, and P. Vajdovich, ed. Humana Press/Springer Science + Business Media LLC, New York, NY. 191–231.
- Celi, P., Raadsma H.W., 2010. The effects of Yerba Mate (*Ilex paraguarensis*) supplementation on the productive performance of lactating dairy cows. *Animal Production Science*. 50, 339–344.
- Cevolani D., 2005. Gli alimenti per vacca da latte. Materie prime e razioni per bovine ad alta produzione. Edagricole, Bologna. 262-263.
- Cools S., Van den Broeck W., Vanhaecke L., Heyerick A., Bossaert P., Hostens M., Opsomer G., 2014. Feeding soybean meal increases the blood level of isoflavones and reduces the steroidogenic capacity in bovine corpora lutea, without affecting peripheral progesterone concentrations. *Animal Reproduction Science*. 144, 79 –89.
- Correia R. T. P., McCue P., Magalhaães M. M. A, Maceˆdo G. R., Shetty K., 2004. Production of phenolic antioxidants by the solidstate bioconversion of pineapple waste mixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*. *Process Biochemistry*. 39, 2167–2172.
- Crank D.L., Kerr P.S., 1999. Isoflavone-enriched soy protein product and methods for its manufacture. United States Patent, 5-858-449.
- Dann H.M., Tucker H.A., Cotanch K.W., Krawczel P.D., Mooney C.S., Grant R.J., Eguchi T., 2014. Evaluation of lower- starch diets for lactating Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 97, 7151–7161.
- Dhakad A., Garg A.K, Singh P., Agrawal D.K.,2002. Effect of replacement of maize grain with wheat bran on the performance of growing lambs. *Small Ruminant Reserch* Volume 43, 195-294.
- Dinelli G., Segura-Carretero A., Di Silvestro R., Marotti I., Fu S., Benedettelli S., Ghiselli L., Gutierrez A.F., 2009. Determination of phenolic compounds in modern and old varieties of durum wheat using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1216, 7229–7240.
- Di Trana A., Celi P., Claps S., Fedele V., Rubino R., 2006. The effect of hot season and nutrition on the oxidative status and metabolic profile in dairy goats during mid lactation. *Animal Science*. 82, 717–722.

- Di Trana A., Bonanno A., Cecchini S., Giorgio D., Di Grigoli A., Claps S., 2015. Effects of Sulla forage (*Sulla coronarium* L.) on the oxidative status and milk polyphenol content in goats. *Journal of Dairy Science*. 98, 37–46.
- Ertl P., Knaus W., Metzler-Zebeli B. U., Klevenhusen F., Khiaosa-Ard R., Zebeli Q., 2015. Substitution of common concentrates with by-products modulated ruminal fermentation, nutrient degradation, and microbial community composition in vitro. *Journal of Dairy Science*. 98, 4762–4771.
- Ertl P., Zebeli Q., Zollitsch W., Knaus W., 2016. Feeding of wheat bran and sugar beet pulp as sole supplements in highforage diets emphasizes the potential of dairy cattle for human food supply. *Journal of Dairy Science*. 99, 1228–1236.
- Esposito F., Arlotti G., Bonifati A. M., Napolitano A., Vitale D., Fogliano V., 2005. Antioxidant activity and dietary fibre in durum wheat bran by-products. *Food Research International*. 38, 1167–1173.
- Esterbauer H., Zollern H., 1989. Methods for determination of aldehydic lipid peroxidation products. *Free Radical Biology and Medicine*. 7, 197-203.
- Fulcher R.G., Rooney Duke T.K., 2002. Whole grain structure and organization: implications for nutritionists and processors. In: *Wholegrains in Health and Disease*. American Association for Clinical Chemistry. Eagan Press, St Paul, Minnesota.
- Garrote G., Cruz J. M., Domínguez H., Parajo J. C., 2003. Valorisation of waste fractions from autohydrolysis of selected lignocellulosic materials. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 78, 392–398.
- Giannico F., Colonna M. A., Ragni M., Cagnetta P., Russo A.M., Caputi Jambrenghi A.. Performance produttive di agnelli Gentile di Puglia alimentati con diete contenenti sottoprodotti dell'industria molitoria del grano duro. Atti XXI Congresso SIPAOC 2014, Foggia 9-12 settembre 2014, *Large Animal Review*, 4 (1) 183.
- Gianotti A., Danesi F., Verardo V., Serrazanetti D.I., Valli V., Russo A., Riciputi Y., Tossani N., Caboni M.F., Guerzoni M. E., Bordoni A., 2011. Role of cereal type and processing in whole grain in vivo protection from oxidative stress. *Frontiers in Bioscience*. 16, 1609–1618.
- Gioia P., 2014. “Germe di grano e quinoa: ingredienti alternativi per lo sviluppo di alimenti ad alta valenza tecnologica e nutrizionale” Tesi di dottorato di ricerca in Biotecnologia degli Alimenti. ciclo XXVII, Università del Molise.

- Gladine C., Rock E., Morand C., Bauchart D., Durand D., 2007a. Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British of Nutrition*. 98, 691–701.
- Gladine C., Morand C., Rock E., Gruffat D., Bauchart D., Durand D., 2007b. Plant extracts rich in polyphenols (PERP) are efficient antioxidants to prevent lipoperoxidation in plasma lipids from animals fed n-3 PUFA supplemented diets. *Animal Feed Science and Technology*. 139, 257–272.
- Halliwell B. and Whiteman M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology* 142, 231-255.
- Hayes J. E., Stepanyan V., Allen P., O’Grady M. N., O’Brien N. M., Kerry J. P., 2009. The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*. 83, 201–208.
- Hartwell B. W., Iñiguez L., Knaus W. F., Madsen J., 2010. Awassi lamb growth responses and carcass traits, and economic benefits associated with reduced-cost diets made from locally available feed resources. *Small Ruminant Research*. 93, 48-52.
- Haslam E., Lilley T. H., 1988. Natural astringency in foodstuffs. A molecular interpretation. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 27, 1 – 40.
- Hatcher D.W., Kruger J.E., 1997. Simple phenolic acids in flours prepared from Canadian wheat: relationship to ash content, color, and polyphenol oxidase activity. *Cereal Chemistry*. 74, 337–343.
- Hemery Y., Rouau X., Lullien-Pellerin V., Barron C., Abecassis J., 2007. Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *Journal of Cereal Science*. 46, 327–347.
- Hilario M. C., Puga C. D., Ocana A. N., Romo F. P. G., 2010. Antioxidant activity, bioactive polyphenols in Mexican goats’ milk cheeses on summer grazing. *Journal of Dairy Research*. 77, 20–26.
- Hoeschen, R.J., 1997. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Canadian Journal of Cardiology*. 13, 1021–1025.
- Howard A. N., Nigdikar S. V., Rajput-Williams J., Williams N. R., 2000. Food supplements. United States Patent, 6086910.
- Ichihashi M, Ueda M, Budiyo A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T., 2003. UV-induced skin damage. *Toxicology*. 189, 21-39.

- IDF (International Dairy Federation). 1964a. Determination of the protein content of processed cheese products. Standard FIL-IDF 25:1964. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF (International Dairy Federation). 1964b. Determination of the ash content of processed cheese products. Standard FIL-IDF 27:1964. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF (International Dairy Federation). 1982. Cheese and processed cheese product. Determination of the total solids content. Standard FIL-IDF 4A:1982. International Dairy Federation, Brussels Belgium.
- IDF (International Dairy Federation). 1986. Cheese and processed cheese product. Determination of fat content-gravimetric method (Reference method). Standard FIL-IDF 5B:1986. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF (International Dairy Federation). 1991. Determination of the peroxide value. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- ISO, 2005. Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1: Content of total polyphenols in tea. Colorimetric method using Folin-Ciocalteu reagent. vol. ISO 14502–1. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, Switzerland.
- Kanaski, J., Aksenova, M., Stoyanova, A., Butter field, D. A., 2002. Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro: Structure activity studies. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13, 273–281.
- Kaur C. and Kapoor H. C., 2001. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. *International Journal of Food Science and Technology*. 36, 703-725.
- Khalilia H., Sairanenb A., 2000. Effect of concentrate type on rumen fermentation and milk production of cows at pasture. *Animal Feed Science and Technology*. 84, 199-212.
- Knaus W., 2009. Dairy cows trapped between performance demands and adaptability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 89, 1107–1114, 1163.
- Knaus W., 2013. Re-thinking dairy cow feeding in light of food security. *AgroLife Scientific Journal*. 2, 36–40.
- Kumar G. S. & Krishna A. G. G., 2015. Studies on the nutraceuticals composition of wheat derived oils wheat bran oil and wheat germ oil. *Journal of Food Science and Technology*. 52, 1145–1151.

- Kwon K.-T., Uddin Md. S. U., Jung G.-W., Sim J.-E., Chun B.-S., 2010. Supercritical carbon dioxide extraction of phenolics and tocopherols enriched oil from wheat bran. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*. 4, 188-193.
- Idris W. H., Babiker E. E., El Tinay A. H., 2003. Fractionation, solubility and functional properties of wheat bran proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Molecular Nutrition e Food Research*. 47, 425–429.
- Laddomada B., Durante M., Minervini F., Garbetta A., Cardinali A., D'Antuono I., Caretto S., Antonio B., G. Mita., 2015. Phytochemical Composition and Anti-Inflammatory Activity of Extracts from the Whole-Meal Flour of Italian Durum Wheat Cultivars. *Int. J. Mol. Sci.. International Journal of Molecular Sciences*. 16, 3512-3527.
- Lampi A.-M., Nurmi T., Ollilainen V., Piironen V., 2008. Tocopherols and tocotrienols in wheat genotypes in the HEALTHGRAIN diversity screen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 9716-9721.
- Lempereur I, Rouau X, Abecassis J., 1997. Genetic and agronomic variation in arabinoxylan and ferulic acid contents of durum wheat (*Triticum durum* L.) grain and its milling fractions. *Journal of Cereal Science*. 25, 103–110.
- Lykkesfeldt J., Svendsen O., 2007. Review Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal*. 173, 502–511.
- López-Andrés P, Luciano G, Vasta V, Gibson TM, Biondi L, Priolo A., Mueller-Harvey I., 2013. Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. *British Journal of Nutrition* 110, 632–639.
- López-Andrés, P., Luciano, G., Vasta, V., Gibson, T.M., Scerra, M., Biondi, L., Priolo, A., Mueller-Harvey, I., 2014. Antioxidant effects of ryegrass phenolics in lamb liver and plasma. *Animal*, 8, 51-57.
- Luciano G., Monahan, F. J., Vasta V., Biondi L., Lanza M., Priolo A., 2009. Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Science*. 81, 120–125.
- Luciano G., Vasta V., Monahan F. J., Lopez-Andrez P., Biondi L., Lanza M., Priolo A., 2011. Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of longissimus dorsi muscle from lambs fed a tannin-containing diet. *Food Chemistry*. 124, 1036–1042.
- Lucisano, M., Pagani, M. A. (1997). *Cereali e derivati*. Daghella A., *Gli Alimenti: Aspetti tecnologici e nutrizionali*. Istituto Danone, Milano. 7-68.

- Makkar H.P.S., Francis G., Becker K, 2007. Bioactivity of phytochemicals in some lesser known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production. *Animal* 1, 1371–1391.
- Martillotti F., Bartocci S., Terramoccia S. (1996). Guida all'alimentazione dei ruminanti da latte: tavole dei valori nutritivi degli alimenti di interesse zootecnico. Editore INEA, Roma. 162-175, 176-177.
- McKeehen J. D., Busch R. H., Fulcher R. G., 1999. Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) phenolic acids during grain development and their contribution to *Fusarium* resistance. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 47, 1476–1482.
- Mele M., Contarini G., Cercaci L., Serra A., Buccioni A., Povolò M., Conte G., Funaro A., Banni S., Lercker G., Secchiari P. L., 2011. Enrichment of Pecorino cheese with conjugated linoleic acid by feeding dairy ewes with extruded linseed: Effect on fatty acid and triglycerides composition and on oxidative stability. *International Dairy Journal* 21, 365-372.
- Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T.C., 2002. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*. 52, 673–751.
- Miller H. E., Rigelhof F., Marquart L., Prakash A., Kanter M., (2000). Whole-grain products and antioxidants. *Cereal Food World*. 45, 59–62.
- Miller J. K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F.C., 1993. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. *Journal of Dairy Science* 76, 2812-2823.
- Min B. R., Barry T. N., Attwood G. T., McNabb W. C., 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants feed fresh temperate forages: a review. *Animal Feed Science and Technology*. 106, 3-19.
- Möller N. P., Scholz-Ahrens K. E., Roos N., Schrezenmeir J., 2008. Bioactive peptides and proteins from foods: Indication for health effects. *European Journal of Nutrition*. 47, 171–182.
- Møller M.E., Dahl R., Bøckman O.C., 1988. A possible role of the dietary fibre product, wheat bran, as a nitrite scavenger. *Food Chemistry and Toxicology*. 26, 841–845.
- Moñino I., Martínez C., Sotomayor J. A., Lafuente A. and Jordán M. J., 2008. Polyphenolic transmission to Segureño lamb meat from ewes' diet supplemented with the distillate from rosemary (*rosmarinus officinalis*) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 3363–3367.

- Monticelli D., 2009. Tesi di laurea Il tratto gastro-intestinale come un estrattore. Rilascio di nutrienti e nutraceutici da matrici alimentari solide. Scienze e tecnologie Agrarie. Anno 2008-2009. Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia.
- Mueller-Harvey I., 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86, 2010–2037.
- Naczek M., Shahidi F., 2006. Review Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41, 1523-1542.
- Napolitano F, Cifuni GF, Pacelli C, Riviezz AM, Girolami A, 2002. Effect of artificial rearing on lamb welfare and meat quality. *Meat Science*, 60. 307–315.
- National Research Council (NRC), 1985. Nutrient Requirements of Sheep, 6th edition. National Academy Press, Washington, DC.
- National Research Council (NRC), 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised ed., Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture and Natural Resources National Academy Press, Washington, D.C.
- Neethirajan S., Jayas D.S., 2011. Nanotechnology for the Food and Bioprocessing Industries. *Food and Bioprocess Technology*. 4, 39–47.
- O’Connell J. E., Fox P. F., 2001. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: A review. *International Dairy Journal*. 11, 103–120.
- O’Connor C. J., Sun D., Smith B. G., Melton L. D., 2003. The inhibitory effects of brans and their aqueous extracts on the lipolysis of tributyrin catalyzed by calf pregastric lipase. *Journal of Food Science*. 68, 1818–1825.
- Oltjen J. W., Beckett J. L., 2006. Role of ruminant livestock in sustainable agricultural systems. *Journal of Animal Science*. 74, 1406–1409.
- Panatta G. B., 1997. Cereali e patate. In: *Nutrizione Umana*. Fidanza F. and Liguori G. (Eds), Idelson, Napoli. 268-289.
- Pannala A., Razaq R., Halliwell B., Singh S., Rice-Evans C., 1998. Free Radical Biology and Medicine Volume 24, 594–606.
- Parker M. L., Ng A., Waldron K. W., 2005. The phenolic acid and polysaccharide composition of cell walls of bran layers of mature wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Avalon) grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85, 2539–2547.

- Parodi P. W., 1996. Milk fat components: Possible chemopreventative agents for cancer and other diseases. *Australian Journal of Dairy Technology*. 51, 24–32.
- Piccioni M. 1989. *Dizionario degli alimenti per il bestiame*, Edizioni Agricole della Calderini s.r.l.. 207.
- Priolo A., Micol D., Agabriel J., 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavor. A review. *Animal Research*. 50, 185-200.
- Priolo A., Vasta V., Fasone V., Lanza C.M., Scerra M., Biondi L., Bella M., Whittington F. M., 2009. Meat odour and flavour and indoles concentration in ruminal fluid and adipose tissue of lambs fed green herbage or concentrates with or without tannins. *Animal* 3, 454–460.
- Pszczola D. E., 1998. ABC's of nutraceutical ingredients. *Food Technology*. 52, 30–37.
- Ramírez, E.; Whitaker, J.; Mirador, V. Polyphenol oxidase., 2003. In *Handbook of Food Enzymology*; Whitaker, J., Voragen, A., Wong, D., Eds., Marcel Dekker. 509–523.
- Ranade R., Talukder S., Muscatello G., Celi P., 2014. Assessment of oxidative stress biomarkers in exhaled breath condensate and blood of dairy heifer calves from birth to weaning. *Veterinary Journal*. 202, 583-587.
- Rashidinejad A., Birch E. J., Sun-Waterhouse D., Everett D.W., 2013. Effects of catechin on the phenolic content and antioxidant properties of low-fat cheese. *International Journal of Food Science Technology*, 48, 2448-2455.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9), 1231-1237.
- Reed J. D., 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science* 73, 1516–1528.
- Santiago-Arteche, R., Muniz P., Cavia-Saiz M., Garcia-Giron C., Garcia-Gonzalez M., Llorente-Ayala B., Coma-del Corral M. J., 2012. Cancer chemotherapy reduces plasma total polyphenols and total antioxidants capacity in colorectal cancer patients. *Mol. Biol. Rep.* 39, 9355–9360.
- Santos-Silva, J., & Portugal, A.V., 2001. The effect of weight on carcass and meat quality of Serra da Estrela and Merino Branco lambs fattened with dehydrated lucerne. *Animal Research*, 50, 289-298.
- Santos-Silva, J., Mendes, I.A., & Bessa, R. J.B., 2002. The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: 1. Growth, carcass composition and meat quality. *Livestock Production Science*. 76, 17-25.

- S.A.S., 2004. SAS/STAT Qualification Tools User's Guide (version 9.1.2). Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Serafini, M., Maiani G., Ferro-Luzzi A., 1998. Alcohol-free red wine enhances plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Nutrition*. 128, 1003–1007.
- Shewry P. R., D'Ovidio R., Lafiandra D., Jenkins J. A., Mills, E. N. C., Békés F., 2009. Wheat grain proteins. AACC International. 223–298.
- Schreurs N. M., Lane G.A., Tavendale M. H., Barry T. N., McNabb W. C., 2008. Pastoral flavour in meat products from ruminants fed fresh forages and its amelioration by forage condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology* 146, 193–221.
- Schreurs N. M., Tavendale M. H., Lane G. A., Barry T. N., McNabb W. C., Cummings T., Fraser K., Lopez-Villalbos N., 2007a. The effect of supplementation of a white clover or perennial ryegrass diet with grape seed extract on indole and skatole metabolism and the sensory characteristics of lamb. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87, 1030–1041.
- Singh P., Garg A. K., Malik R., Agrawal D. K., 1999. Effect of replacing barley grain with wheat bran on intake and utilisation of nutrients in adult sheep. *Small Ruminant Research*. 31, 215-219.
- Stevenson D. E., Hurst R. D., 2007. Review Polyphenolic phytochemicals – just antioxidants or much more?. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 64, 2900 – 2916.
- Sun J.-X., Sun X.-F., Sun R.-C., Fowler P., Baird M. S., 2003. Inhomogeneities in the chemical structure of sugarcane bagasse lignin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 6719–6725.
- Tarladgis B.G., Watts B.M., Younathan M.T., Dugan L. Jr., (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of the American Oil Chemists Society*. SOC. 37, 44-48.
- Tiwari U., Cummins E., 2009. Nutritional importance and effect of processing on tocopherols in cereals. *Trends in Food & Technology*. 20, 511-520.
- Tufarelli V., Khanb R. U., Laudadio V., 2011. Feeding of wheat middlings in lamb total mixed rations: effects on growth performance and carcass traits. *Animal feed science and technology*. 170, 130-135.
- Turk R., Juretic D., Geres D., Turk N., Rekić B., Simeon-Rudolf V., Svetina A., 2004, Serum paraoxonase activity and lipid parameters in the early postpartum period of dairy cows. *Research in Veterinary Science*. 76, 57-61.

- United States Department of Agriculture (USDA). National Nutrient Database for Standard Reference Release 26.2013.<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/6419?fg=&man=&lfacet=&count=&max=25&sort=&qlookup=wheat+bran&offset=&format=Full&new=&measureby=> (accessed January 21, 2014).
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*. 74, 3583-3597.
- Vasta V., Luciano G., 2011. The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research*. 101, 150-159.
- Vasta V., Makkar H.P.S., Mele M., Priolo A., 2009. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins in vitro. *British Journal of Nutrition*. 102, 82–92.
- Vernon R. G., 2002. Nutrient partitioning, lipid metabolism and relevant imbalances. In: Kaske M., Scholz H., Holtershinken M. (Eds.), *Recent Developments and Perspectives in Bovine Medicine*. Klinik fur Rinderkrankheiten, Tirarztliche Hochschule, Hannover.. 210-223
- Voelker J. A., Allen M.S., 2003. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 1. Effects on feed intake chewing behavior, and milk production of lactating dairy cows. *Journal of dairy science*. 86, 3542–3552.
- Wilkinson J. M., 2011. Re-defining efficiency of feed use by livestock. *Animal*. 5, 1014–1022.
- Zhong R. Z., Tan C. Y., Han X. F., Tang S. X., Tan Z. L., Zeng B., 2009. Effect of dietary tea catechin supplementation in goats on the quality of meat kept under refrigeration. *Small Ruminant Research*. 87, 122–125.
- Zhou K., Laux J. J., Yu L., 2004. Comparison of Swiss red wheat grain and fractions for their antioxidant properties. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 52, 1118–1123.
- Zielinski H. & Kozłowska H., 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and diVerent morphological fractions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 48, 2008–2016.
- Zygoiannis, D., Katsaounis, N., Stamataris, C., Arsenos, G., Tsaras, L., & Doney, J., 1999. The use of nutritional management after weaning for the production of heavier lamb carcasses from Greek dairy breeds. *Livestock production science*, 57, 279-289.

- Young O. A., Berdaguè J.-L., Viallon C., Rousset-Akrim S., Thierez M., 1997. Fat-bourne volatiles and sheepmeat odour. *Meat Science*. 45, 93-104.
- Xiong F., Yu, X.-R., Zhou L., Wang, Z., Wang, F., Xiong, A.-S., 2013. Structural development of aleurone and its function in common wheat. *Molecular Biology Reports*. 40, 6785–6792.

SITOGRAFIA

<http://www.istat.it/it/files/2015/12/Asi-2015.pdf>

<http://www.faostat.fao.org>

<http://www.ismeaservizi.it/>